

Rec'd PCT/PTO 15 APR 2005

PATENTTI- JA REKISTERIHALITUS
NATIONAL BOARD OF PATENTS AND REGISTRATION

Helsinki 29.10.2003

PCT/IB 03/04646

26.11.03
10/531464

E T U O I K E U S T O D I S T U S
P R I O R I T Y D O C U M E N T

REC'D 05 DEC 2003

WIPO

PCT



Hakija
Applicant

Bio-Nobile Oy
Masku

Patentihakemus nro
Patent application no

20021870

Tekemispäivä
Filing date

18.10.2002

Kansainvälinen luokka
International class

B03C

Keksinnön nimitys
Title of invention

"Magneettinen siirtomenetelmä ja mikropartikkelienv siirtolaite"

Täten todistetaan, että oheiset asiakirjat ovat tarkkoja jäljennöksiä
Patentti- ja rekisterihallitukselle alkuaan annetuista selityksestä ja
piirustuksista.

This is to certify that the annexed documents are true copies of the
description and drawings originally filed with the Finnish Patent Office.

Ylikirje
Pirjo Kalla
Tutkimussihteeri

PRIORITY
DOCUMENT

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

Maksu 50 €
Fee 50 EUR

Maksu perustuu kauppa- ja teollisuusministeriön antamaan asetukseen 1027/2001
Patentti- ja rekisterihallituksen maksullisista suoritteista muutoksineen.

The fee is based on the Decree with amendments of the Ministry of Trade and Industry
No. 1027/2001 concerning the chargeable services of the National Board of Patents and
Registration of Finland.

Osoite: Arkadiankatu 6 A Puhelin: 09 6939 500 Telefax: 09 6939 5328
P.O.Box 1160 Telephone: + 358 9 6939 500 Telefax: + 358 9 6939 5328
FIN-00101 Helsinki, FINLAND

BEST AVAILABLE COPY

MAGNEETTINEN SIIRTOMENETELMÄ JA MIKROPARTIKKELIEN SIIRTOLAITE

KEKSINNÖN TAUSTA

Keksinnön kohteena on magneettinen siirtomenetelmä ja mikropartikkeliensiirtolaite.

5 Magneetin avulla siirrettäviä mikropartikkaleita on paljon erilaisia ja sovellukset, joissa niitä käytetään vaihtoelevat myös paljon. Mikropartikkaleilla tai magneettipartikkaleilla tarkoitetaan tässä kaikkia sellaisia partikkeleita tai pieniä hiukkasia, joita voidaan liikkuttaa magnetismin avulla. Sellaisia ovat esimerkiksi magneettihiuksiset ja ferromagneettista, 10 paramagneettista tai supramagneettista materiaalia sisältävät hiukkaset. Hiukkasten käsittelyllä tarkoitetaan kaikkea niiden liikkeliin liittyvää toimintaa, kuten esimerkiksi partikkeliensiirtolaite, keräämistä, siirtämistä tai annostelua, joko samassa nesteessä 15 tai nesteestä toiseen.

15 Mikropartikkellen käsittelyyn tarkoitettussa laitteessa on magnetismia hyväksi käyttävä elin, josta on seuraavassa käytetty nimitystä magneetti. Se voi olla kestomagneetti tai sähkömagneetti, joka vetää ferromagneettisia hiukkasia puoleensa, tai ferromagneettinen kappale, joka ei itse ole magneettinen, mutta vetää silti magneettisia hiukkasia puoleensa.

20 Magneetti on tavallisesti edullisimmin pyöreä tankomagneetti. Se voi olla myös muun muotoinen tanko. Magneetin ei kuitenkaan tarvitse olla tanko lainkaan. Se voi olla myös lyhyt ja leveä, tai minkä muotoinen kappale tahansa. Magneetin päällä on oltava suoja, joka suojaa magneettia erilaisilta haitallisilta olosuhteilta ja mahdollisista mikropartikkellen käsittelyyn, kuten siitomisen ja vapauttamisen. Suojukseen rakenne voi vaihdella suuresti, 25 sillä se voi olla esimerkiksi joustavaa materiaalia oleva ohut kalvo tai vaikka kovamuovia oleva kuppi.

Yleisesti partikkeleita käytetään künteänä faasina (engl. solid phase) siitomään erilaisia biomolekyylejä, soluorganelleja, bakteereja tai soluja. Partikkeleiden pinnalle voidaan myös 30 immobilisoida esimerkiksi entsyymejä, jolloin entsyymien käsittely ja jatkokäyttö on tehokasta. Useimmat nk. magneettiset nanopartikkkelit (< 50 nm) eivät sovella tavallisilla kestomagneeteilla tai sähkömagneeteilla käsittelyäkseen vaan vaativat erityisen voimakkaan magneettigradientin käytämistä, kuten on esitetty julkaisussa EP 0842704 (Miltenyi Biotec). Tavallisilla kesto- ja sähkömagneeteilla voidaan käsitellä magneettipartikkeleita, 35 jotka ovat noin 0,1 mikrometriä tai suurempia halkaisijaltaan. Näytteen viskositeetti voi myös vaikeuttaa partikkeleitten poimimisista merkittävästi. Kerättävät partikkkelit voivat olla alunperin suspendoitu isoon nestemäärään, josta halutaan siitoa tutkittavaa ainetta tai

vaikkapa soluja partikkeleitten pinnalle. Erityisen tärkeää on volda käyttää (soja lähtötilavuussoveltuksissa, joista vähälukuiset komponentit halutaan saada eristettyä analysointia varten. Esimerkiksi patogenisten bakteerien tehokas rikastaminen suuresta näyttilätilavuudesta pieneen on kriittinen koska vaikuttaa suoraan määrikyksen harkkyteen ja analysiaikaan. Tällä hetkellä ei ole olemassa riittävän tehokasta tapaa tehdä magneettipartikkelen avulla konsentrointia suuresta tilavuudesta pieneen tilavuuteen. Edullista olisi se, että edellä kuvatun kaltainen suoritus olisi mahdollisimman yksinkertainen ja tehokas.

10 TEKNIIKAN TASO

Magnetoitavia partikkeleita on käytetty jo 1970-luvulta lähtien. Tämä teknologia tuli hyvin suosituksi muun muassa immunomäärikyksissä. Magnetoitavien partikkelen käytämisellä immunomäärikyksissä sitoutuneen antigeni-vasta-aine kompleksin erottamiseksi vapaasta fraktiosta tarjosi merkittävän edun sekä reaktionopeudessa että erottuksen. 15 Käytännöllisyydessä. Pääasiallinen kehitys magnetoitavien partikkelen hyväksikäytössä on viimeisten vuosien aikana tapahtunut molekyylibiologian ja solubiologian alueilla.

Reaktioliuoksessa olevat magneettipartikkelit, joihin biologinen aine, esimerkiksi solut, bakteerit, proteiinit tai nukleelihappo on sidottu, on perinteisessä menetelmässä reaktion jälkeen astian ulkopuolisen magneetin avulla vangittu tietyyn kohtaan, jolloin liuos on mahdollista poistaa ilman että magneettiset partikkelit seuraavat mukana. Tässä menetelmässä käsittellään aktiivisesti nesteitä ja magneettipartikkelit pysyvät samassa astiassa koko suorituksen ajan.

25 Toisessa lähestymistavassa magneettia aktiivisesti siirtämään magneettipartikkeleita. Magneetti vetää puoleensa magneettipartikkelit ja ne muodostavat kinteän saostuman. Nyt voidaan magneetti ja magneettipartikkelit nostaa pois nesteestä. Magneetti partikkeleineen voidaan tämän jälkeen upottaa toiseen koeputkeen, jossa on nestettä valmiina. Magneettipartikkelit voidaan irrottaa magneetista koeputkessa olevaan nesteeseeen.

30 Patentijulkaisussa US 2,517,325 (Lamb) kuvataan ratkalsu metalliesineiden poimimiseksi magneetin avulla. Julkaisussa kuvataan pitkä sauvamagneetti, jota liikutetaan rautaputken sisällä. Sauvamagneetin navat ovat fyysisen magneetin pitusakselin vastaisissa päässä. Liikuttamalla magneettia rautaputkessa sisäänpäin, voidaan magneettikenttää pienentää. 35 Vastaavasti magneettia liikuttamalla ulos rautaputkesta magneettikenttä voimistuu. Julkaisussa kuvataan ratkalsu, jolla voidaan kerätä metalliesineitä magneettiyksikön

kärklosaan. Julkaisussa kuvataan myös kiinteää muovisuoja, jolla magneetti voidaan suojata.

Patentijulkaisussa US 2,970,002 (Laviano) kuvataan ratkaisu metalliesineiden 5 keräämiseksi nesteistä magneetin avulla. Tässäkin patentissa kuvataan pitkä kestomagneetti, joka kerää partikkaleita magneettiyksikön kärklosaan. Magneetti on kiinni metallitangossa ja suojattu erillisellä muovisuojalla. Julkaisussa esitetään kestomagneetin liikuttamisen ja magneetin suojan käytettävän muovisuojan yhtäläisyyttöä. Julkaisussa kuvataan metalliesineiden kerääminen magneettiyksikön kärklosaan ja metalliesineiden 10 vapautus suojan päältä erityisen muovisuojan muotoilun avulla.

Patentijulkaisuissa US 3,985,649 (Eddelman), US 4,272,510 (Smith et al.), US 4,649,116 (Daty et al.), US 4,751,053 (Dodin et al.) ja US 5,567,326 (Ekenberg et al.) kuvataan ratkaisuja, joissa kaikissa magneetilla kerätään magnetoitavaa materiaalia suoraan 15 liuoksesta. Näille julkaisuille on yhtäläistä myös se, että magneetit eivät ole suojattu erillisillä muovisuojilla. Näissä ratkaisuissa edellytetään magneettikärjen pesua ennen seuraavan näytteen käsitteilyä kontaminaationkin ja epäpuhtauksien siirtymisefektiin (engl. carry-over effect) poistamiseksi.

20 Patentijulkaisussa US 5,288,119 (Crawford, Jr. et al.) kuvataan ratkaisu, jolla voidaan kerätä metalli-esineltä magneetin avulla. Julkaisun mukaisen laitteen magneettia ei ole suojattu erityisellä suojalla eikä se soveltu metalliesineiden poimimiseen nesteistä. Julkaisussa kuvataan ratkaisu suurempien metalliesineiden poimimiseksi. Julkaisussa on esitetty pitkä sauvamagneetti, jota liikutaan ei-magneetin putken sisällä. Tämän putken 25 erityisominaisuus on se että se toimii magneettikentän estäjänä (engl. blocking) valkka se ei ole magneettinen. Julkaisussa esitetään vaihtoehtoisina materiaaleina tähän tarkoltukseen esimerkiksi viismutti tai lyijy tai niiden seos. Ratkaisun mukaisen laitteen magneetti ei ole suojattu erityisellä suojalla eikä se soveltu metalliesineiden poimimiseen nesteistä.

30 Hakemusjulkaisussa WO 87/05536 (Schröder) kuvataan muovisuojan sisällä liikuttavan kestomagneetin käyttöä ferromagneettisen materiaalin keräämiseksi niitä sisältävästä liuoksesta. Magneetin ollessa ala-asennossa ferromagneettinen materiaali keräytyy magneettiyksikön kärklosaan. Julkaisussa kuvataan näin kerätyn ferromagneettisen 35 materiaalin siirtäminen toisessa astiassa olevaan liuokseen ja materiaalin vapauttaminen kärkiosasta sinne. Ferromagneettisen materiaalin vapauttaminen kuvataan suoritettavaksi

muovisensuojan muotoilun avulla, joka estää materiaalia liikkumasta magnettia liikutettaessa ylöspäin.

5 Patenttijulkaisussa US 5,837,144 (Bienhaus et al.) kuvataan menetelmä, magneettipartikkelioiden keräämistä erityisen muovisuojalla varustetun magneetin avulla. Tässä julkaisussa kuvataan magneettipartikkelioiden siirtominen liuoksesta, joka johdetaan astiasta pois erilaisin järjestelyin. Magneettia liikuttamalla voidaan magneettipartikkeliit saada vapautumaan suojakalvon päältä.

10 Patenttijulkaisuissa US 5,942,124 (Tuunanen), US 6,020,211 (Tuunanen), US 6,040,192 (Tuunanen), US 6,065,605 (Korpela et al.) ja US 6,207,463 (Tuunanen) ja sekä patenttilakemusjulkaisussa US 20010022948 (Tuunanen) kuvataan myös muovisuojalla varustettuja laitteita magneettipartikkelioiden keräämiseksi liuoksesta ja siirtämiseksi tolseen liuokseen. Nälissä julkaisuissa kuvataan pääasiallisesti ratkaisuja, joiden tarkoituksena on 15 käsitellä magneettipartikkeleita erittäin pienissä tilavuuksissa. Julkaisussa US 5,942,124 (Tuunanen) kuvataan laite, jolla magneettipartikkeliit voidaan konsentroida aivan magneettiyksikön kärkiosaan. Julkaisussa US 6,020,211 (Tuunanen) kuvataan edellisessä julkaisussa esitetyä laitetta käytettäväksi yhdessä suuren nk. perinteisen magneetin avulla kerättyjen magneettipartikkeleiden siirtämiseen pienempiin astioihin. Julkaisussa US 20, 6,040,192 (Tuunanen) kuvataan automatisoltu menetelmä magneettipartikkelioiden käytöstä spesifisissä määritetyissä ja pienien tilavuuksien käsitellyssä. Julkaisussa US 6,065,605 (Korpela et al.) jatketaan edelleen julkaisussa US 5,942,124 (Tuunanen) kuvatun ratkaisun soveltamista suurehkojen tilavuuksien käsitellyyn. Nyt kuvataan menetelmä, jossa 25 magneettipartikkeliit on ensin kerätty erityisellä ison magneetin sisältäväällä magneettiyksiköllä. Tämän jälkeen käytetään julkaisussa US 5,942,124 (Tuunanen) kuvattua magneettiyksikköä siirtämään magneettipartikkeliipelletti eteenpäin pienempiin astioihin. Julkaisussa US 6,207,463 (Tuunanen) samaten sovelletaan edellä kuvattua magneettiyksikköä, jolla voidaan kerätä magneettipartikkeleita alivan laitteeen kärkiosaan. Hakemusjulkaisu US 20010022948 (Tuunanen) kuvaa myös erittäin pieni 30 magneettipartikkeliimäärän käsittelyistä erityisissä sille suunnitelluissa astioissa.

35 Patenttijulkaisussa US 6,403,038 (Heermann) kuvataan laite, jossa on muovisuoja ja erityiseen tankoon kiinnitetty kestomagneetti. Magneettipartikkeliit kerätään muovisuojan kärkiosaan ja menetelmä on erityisesti tarkoitettu pienien tilavuuksien käsittelyn. Tangossa on erityinen ulkoneva osa, jonka avulla magneetti ja tanko pysyy paikallaan suoja-putkessa.

Patentissa EP 1058851 (Korpela) ja hakemusjulkaisussa WO 01/60867 (Korpela) kuvataan laitteita, joissa on venyvä elastomeerinen suojakalvo. Näissä ratkaisuissa magneettipartikkeliit kerätään venyvän suojakalvon pinnalle, josta ne edelleen voldaan siirtää toiseen astiaan. Magnestin suojakalvo on tehty venyvästä materiaalista, jolloin kalvo on venyneenä mahdollisimman ohut. Nämä aikaansaadaan mahdollisimman pieni etäisyys magneetista nesteesseen.

Patentijulkaisussa US 5,610,077 (Davis et al.) kuvataan erityisen sisäputken ja ulkoputken yhteiskäyttöä suoritettaessa spesifisiä immunomäärityksiä. Julkaisussa kuvataan erityisen sisäputkijärjestelyn avulla suoritettavia immunomäärityksiä koeputkessa tai mikrotiitterilevyn kuopassa pienellä nestetilavuudella. Kyseisellä putkijärjestelyllä voidaan koeputkessa tai mikrotiitterilevyn kuopassa olevan pienin nestetilavuuden nestepintaa nostaa ja näin saada alkaan putken reaktiivisen pinnan suureneminen ja liuoksentehokas sekoitus. Julkaisussa ei mainita mikropartikkeliaiita eikä konsentrointia suuresta nestetilavuudesta pieneen nestetilavuuteen.

Missään edellä kuvatuissa patentteissa ei ole kuvattu menetelmää, jolla voitaisiin kerätä erittäin suurista nestetilavuuksista magneettipartikkelia ja vapauttaa kerätty partikkeliit pienempään nestetilavuuteen. Varsinkaan ei ole kuvattu realistista tapaa kerätä suurta magneettipartikkelmääriä suuresta nestetilavuudesta. Edellä mainituissa julkaisuissa kuvataan ennenminkin plenehköjen nestetilavuuksien, kuten 5-10 ml käsittelyä, ja erittäin plenten nestetilavuuksien käsittelyä. Jos halutaan siota proteiineja, peptidejä, nukleiinhappoja, soluja, bakteereja, viruksia tai muita komponentteja isosta tilavuudesta mikropartikkeliien pinnalle on olemassa tiettyjä perusedellytyksiä käytettävälle optimaaliseelle partikkelimääälle. Riippuen käytettävistä mikro-partikkelielsta, edullinen partikkelen määriä eristettävä nestemillilitraa kohdilla voi olla esimerkiksi vähintään 10^7 kpl esimerkiksi 1-5 μm halkaisijaltaan olevia mikropartikkelia. Tarvittavien partikkelen määriä kasvaa edelleen, jos tietystä yksikkötilavuudesta halutaan saada mahdollisimman luotettavasti sidotuksi haluttu, erittäin harvalukuinen komponentti. Tolsalta, jos on tarve kerätä mahdollisimman paljon komponentteja yksikkötilavuudesta, niin lähtökohtana on usein pidetty kerättävän komponentin tiettyä partikkelimääriä, joka on esimerkiksi 4:1. Nämä yleisistä riippuvuussuhteista voldaan karkeasti arvioida tarvittavia mikropartikkelimääriä esimerkiksi 50 ml:n tai 200 ml:n nestetilavuuksien käsittelyyn. Jos esimerkiksi 50 ml:n tilavuuteen pyritään saamaan edes lähelle edullisinta vastaava partikkelimääri, niin mikropartikkeliit pitäisi annostella noin 5×10^8 kpl. Tämä määri vastaa isokokoista partikkeliipellettiä, jonka käsittely edellä esitetyissä julkaisuissa kuvatuilla menetelmillä ei ole edullista tai ei ole edes mahdollista suorittaa. 50 ml:n

nestemäärä on vielä pieni verrattuna moniin sovelluksiin, joissa halutaan käsitellä jopa 10-1000 kertaisia nestemääriä. Sellaiset ratkaisut edellyttävät sivun uudenlaista menetelmää mikropartikkeliin käsitteilyyn.

- 5 Varsinkin julkaisuissa US 5,942,124 (Tuunanen), US 6,020,211 (Tuunanen), US 6,065,605 (Korpela et al.) ja US 6,207,463 (Tuunanen) kuvatun keltaisella ratkaisulla, jossa magneettipartikkeliita on tarkoitus kerätä suurehkosta astiasta suuri määrä erittäin pienellä magneetilla hyvin terävän ja kapean sauvan pinnan kärkiosuuteen, on epäkäytännöllinen.
- 10 Suurta määrää magneettipartikkeliita ei voida siirtää pinnan tilavuuteen pienien pisteen ympäristö, koska magneettipartikkeliin massan muodostaman pelletin fyysiset mitat kasvavat nopeasti käsiteltävän nestetilavuuden myötä. Suuri magneettipartikkeliin massa pitää olla kerättynä joko isolle alueelle tai erityiseen syvennykseen.
- 15 Tämän keksinnön tarkoituksena on aikaansaada menetelmä ja laite, joilla ei ole edellä esitettyjä epäkohtia. Keksintö liittyy nimenomaan magneettipartikkeliin aktiiviseen keräykseen ja siirtelyyn nesteestä toiseen.
- 20 Keskeinen tekninen ominaisuus keksinnössä on se, että magneettikentän voimakkuutta ja kohdistusta suhteessa magneettia ympäröivään suojakalvoon voidaan säädellä. Tämä voidaan toteuttaa liikuttelemalla magneettia ferromagneettisessa putkessa siten, että se voi olla kokonaan putken sisällä, jolloin magneetin teho on mitätön tai olematon, tai se voi olla osittain tai kokonaan putken ulkopuolella, jolloin magneetin teho ja keräyspinta ovat suhteessa magneetin ulkonevaan osaan.
- 25 Putki voi olla tehty raudasta tai muusta sopivasta materiaalista, jonka magneettiset ominaisuudet ovat sopivia estämään magneettivuota pääsemästä putken läpi. Magneetin tehoa voidaan säädellä muuttamalla magneetin palkkaa ferromagneettisen putken suhteen siten, että osa magneetista on putken sisällä. Valitettavasti magneettia voidaan pitää paikallaan ja ferromagneettista putkea liikutetaan suhteessa magneettiin. Magneetti on kiinnitetty tankoon, joka voi olla ferromagneettinen tai ei ole ferromagneettinen, ja jonka avulla magneettia voidaan liikuttaa ferromagneettisessa putkessa.
- 30 35 Keksinnössä mainittava ferromagneettisen putken ominaisuksia ja etuja ovat sinakin seuraavat:
 1. Putki suojaa magneettia ja sen pinnointusta mekaaniselta rasitukselta

2. Putki vahvistaa magneettitangon rakennetta ja erityisesti putken ja liikkuvan tapin liittymiskohtaa
3. Putki mahdollistaa magneelin keräyspinnan ja keräysvoiman säättämisen
4. Putki suojaa ulkopuolisia magneettikentille herkkiä laitteita erityisesti silloin kun magneetti on putken sisällä
5. Putkella voidaan venyttää ja/tai muotoilla venyvää suojakalvoa

Magneetti voi olla muodoltaan esimerkiksi pyöreä tanko tai tappi, mutta se voi olla myös muun muotoinen. Magneelin magnetointiakseli voi myös vaihdella. Magnetointiakseli voi olla joko pituussuuntainen, jolloin se on yhdensuuntainen tangon pituusakselin kanssa ja magneelin navat ovat tangon päässä. Tällöin magnetointi on saman suuntainen kuin ferromagneettinen putki eikä magneelin tai putken liikesuunnan suuntainen.

Magneetin magnetointiakseli voi kuitenkin olla myös poikittaisuuntainen, jolloin se on kohtisuorassa sekä ferromagneettisen putken että tankomaisen magneelin pituusakselin suhteen. Tällöin magnetointin suunta on kohtisuorassa magneelin tai putken liikesuunnan suhteen.

Tolsaalta magneetti voi koostua myös useasta eri magneetista, jotka voivat olla samanlaisia tai erilaisia, ja jotka voivat olla kiinnitettyinä toisiinsa magneettivoiman avulla tai jonkin materiaalin välityksellä, joka on ferromagneettista tai ei ole ferromagneettista. Magneetti voi olla myös yhdistelmä magneettista ja ferromagneettista materiaalia. Magneetti voi myös olla joko kestomagneetti tai sähkömagneetti.

25 Keksinnön mukaisella magneettijärjestelyllä, suojakalvolla ja käytettävillä astioilla voidaan käsitellä erittäin tehokkaasti mikropartikkeliä sekä suurissa että pienissä nestetilavuuksissa. Mikropartikkeliä keskittäminen alvan magneettityysikön kärkiosan tuntumaan mahdollistaa sekä konsentroinnin suurista tilavuuksista että mikropartikkeliä käsittelevä pienissä tilavuuksissa. Keksinnössä kuvataankin universaalista ratkaisua mikropartikkeliä kanssa tehtävään soveltuksiin sekä suuresta että pienestä mittakaavassa.

30 Keksinnön avulla saavutetaan ratkaisu, joka on optimaalinen käytettäväksi laajasti mikropartikkeliä keräämiseksi ja siirtämiseksi sekä suurista että pienistä nestetilavuuksista. Erityisesti eksintö auttaa partikkeliä keräämistä suurista nestetilavuuksista ja niiden vapauttamista pieniin nestetilavuuksiin.

Keksinnössä esitetään erityisellä muovisuojan tai elastomeerin ulkopuolen muotoilulla saavutettavan riittävän tukean kerätävän magneettipartikkeli massan edulliseksi ja luotettavaksi keräämiseksi suojan ympärille. Erityisellä muotoilulla tarkoitetaan esimerkiksi erikokoisia ja syytäsläuria, kuoppia ja/tai kohoumia. Näiden muotoilujen lomien

5 kerätyyessään magneettipartikkelipelletti saa erityistä tukea suoasta kun magneettiyksikköä siinellään ja nestevirtauksia vastaan. Erittäin merkittävä on viskoosien näytöiden aiheuttama vaikuttus, joka merkitsee pahimillaan sitä, että magneettipartikkeliit eivät pysy suojan kyljessä kiinni vaan jäävät liuokseen. Suurten tilavuuksien käsittelyssä edellä mainitulla muotoilulla on luonnollisesti suuri etu keräysvarmuuteen.

10 Keksinnössä kuvattu laite ja menetelmä on mahdollista ottaa käyttöön erittäin suurten tilavuuksien käsittelyssä ja toisaalta sitä voidaan soveltaa myös pienissä tilavuuksissa. Erityisen tehokas menetelmä on silloin kun optimoidaan magneettiyksikkö, sen kanssa käytettävä astiat ja nestetilavuudet keskenään. Erityisesti magneettiyksikön syrjäyttämän

15 nestetilavuuden käytäminen nestepinnan korkeuden säättämiseksi on menetelmässä erittäin tehokas tapa konsentrointivalheessa. Ensimmäistä kertaa kuvataan laite ja menetelmä, jonka mikropartikkellen keräämisalaa, voimakkuutta ja mikropartikkeliien fyysisistä sijaintipalkkaa voidaan säättää kulloistenkin tarpeiden mukaan.

20 Keksinnössä kuvataan laite ja menetelmä, jolla voidaan kerätä mikropartikkeleita monessa eri sovelluksissa. Keskeinen tekninen ratkaisu eksinnössä on magneettikentän voiman ja kohdistuksen säätelymahdollisuus ferromagneettisen putken avulla ympäriivään suojakalvoon, jonka ympärille mikropartikkeliit kerätään. Magneetti voidaan liikuttaa ferromagneettisen putken suhteeseen ulos ja sisään, jolloin magneettin magneettikenttää muutetaan. Magneettin ollessa ulkona kohdistuu suojakalvoon sen suuriin magneettikenttä kuin ferromagneettisen putken ulkopuolella on magneetti. Tällöin mikropartikkeleita voidaan kerätä suojakalvon ulkopuolelle. Kun magneetti on liikutettu kokonaan ferromagneettisen putken sisään ei ulospäin vaikuta merkittävästi magneettikenttää. Tässä tapauksessa mikropartikkeliit eivät keräänty suojakalvon ympärille vaan pysyvät liuoksessa. Putki voi olla kiinteä tai säädetettävä jotta saadaan alkaan paras mahdollinen keräystehokkuus.

25 Keksinnön mukainen menetelmä ja laitemahdolistaavat seuraavat ratkaisut ja ominaisuudet:

30 1. Mikropartikkeliien kerääminen suuresta nestemääristä.
 2. Suuren mikropartikkelmääryn kerääminen.
 3. Saman laitteen käyttäminen pienien nestemäärien ja pienien mikropartikkelmäärien keräämisessä.

- 4. Mikropartikkelen keräämisen ainoastaan magneetin yhteen päähän tai yli koko magneetin pinnan.
- 5. Mikropartikkelen keräämisen jäykäät muovisuoja käytettäessä.
- 6. Mikropartikkelen keräämisen venyvää, elastomeerista muovisuoja käytettäessä.
- 7. Eriäisten liikkeiden, kuten magneetin tai sen ympärillä olevan holkin liikkeiden hyödyntäminen.
- 8. Eriäisten astioiden käyttäminen konsentroinnissa.
- 9. Mikropartikkelen vapauttaminen pieneen nestemääärään.
- 10. Eriäisten magneettien käyttäminen optimaalisen mikropartikkelen keräysgeometrian alkaansaamiseksi.

Mikropartikkeliessä voi olla affinitettiligandeja, entsyymejä, vasta-aineita, bakteereja, soluja tai soluorganelleja. Haluttujen komponenttien sitoutuminen voidaan myös saada aikaan valitsemalla käytettävien mikropartikkelen pinta-ominaisuudet ja puskurien kompositio sopivasti edulliseksi sitomaan haluttuja komponentteja näytteistä. Esimerkkeinä ovat ioninvalihto-, hydrofobinen- ja käänteisfaasikromatografia. Näissä esimerkeissä proteiinien sitoutuminen ja vapauttaminen mikropartikkelen pinnalta suoritetaan sopivasti valitujen puskurien ja liuosten avulla. Erittäin tärkeitä tekijöitä ovat tällöin esimerkeissä suolapitoisuus ja pH.

- 20
- 25
- 30
- 35

Affinitettiligandi voi olla esimerkiksi yksi- tai kaksisäikeinen nukleotidisekvenssi, kuten esimerkiksi DNA (Deoxyribonucleic Acid), RNA, mRNA tai cDNA (Complementary DNA), tai PNA (Peptide Nucleic Acid), proteiini, peptidi, polysakkaridi, oligosakkaridi, pienimolekyylinen yhdiste tai lektiini. Affinitettiligandi voi olla myös jokin seuraavista: Ovomucoid, ProteinA, Aminophenyl boronic acid, Procion red, Phosphoryl ethanolamine, Protein G, Phenyl alanine, Proteamine, Pepstatin, Dextran sulfate, EDTA (Ethylenediaminetetraacetic Acid), PEG (Polyethylene Glycol), N-acetyl-glucosamine, Gelatin, Glutathione, Heparin, Iminodiacetic acid, NTA (Nitrilotriacetic Acid), Lentil lectin, Lysine, NAD (Nicotinamide Adenine Dinucleotide), Aminobenzamidine, Acriflavine, AMP, Aprotinin, Avidin, Streptavidin, Bovine serum albumin (BSA), Biotin, Concanavalin A (ConA) ja Cibacron Blue.

Entsymin tai affinitettiligandin immobilisointi mikropartikkeliin tarkoittaa sitä, että entsyymi tai ligandi on kiinnitetty partikkeleiden pintaan tai että se on vangittu "hääkimäisen" partikkelin sisään, kuitenkin niin, että ympäröivä liuos pääsee kosketukseen sen kanssa.

Entsyymin tai affinitettiligandin kinnittäminen mikropartikkeleihin voidaan tehdä kovalenttisen sidoksen avulla, esimerkiksi kantajassa olevien amino- tai hydroksiryhmien avulla. Vaihtoehtoisesti sitominen voidaan aikaansaada bioaffinitettiparin, esimerkiksi biotiini/streptavidiini -parin avulla. Erään tavan mukaan immobilisoitava entsyymi tuotetaan 5 rekonstruktio-DNA-teknologialla esimerkiksi *Escherichia coli* bakteerissa ja entsyymillä on tehty erityinen affinitetihäntä. Tämä affinitetihäntä sitoutuu mikropartikkeleihin, joihin on sopivasti kinnitetty kyselseen affinitetihäntää voinmäkkäästi sitoutuva komponentti. Affinitetihäntä voi olla pienimolekyylinen yhdiste tai proteiini. Tällaisella järjestelyllä halutun entsyymin puhdistamisessa voitaisiin tehokkaasti käyttää hyväksi 10 mikropartikkeleita ja samalla mikropartikkeliin sitoutunut entsyymi olisi valmiiksi immobilisoitu mikropartikkelin pinnalle käytettäväksi keksinnössä kuvatussa menetelmässä.

Entsymin tai affinitettiligandin kinnittäminen mikropartikkeleihin voi myös olla 15 epäspesifinen, el-kovalenttinen, kuten adsorptio.

Keksinnön kohteena on laite ja menetelmä mikropartikkeleiden kerääminen hyvinkin erikokoisista astioista ja mikropartikkeliin siirtäminen astiasta toiseen. Erityisesti 20 keksinnössä kuvataan laitteta, jolla voidaan suuresta tilavuudesta kerätä mikropartikkeleit ja konsentroida ne pienempään tilavuuteen. Käsite "mikropartikkeli" tarkoittaa tässä yhteydessä partikkeleita, joiden koko suositeltavasti on 0,10-100 μm : Mikropartikkeli voi 25 olla myös huomattavasti suurempien partikkeli esimerkiksi useita millimetriä halkaisijaltaan oleva partikkeeli. Keksinnössä mikropartikkeleit ovat magneettisia, kuten esimerkiksi para-, superpara- tai ferromagneettisia, tai magnetoitavissa olevaa materiaalia, tai mikropartikkeleit, 30 on liitetty magneettiseen tai magnetoitavissa olevaan kappaleeseen ja että mikropartikkeleit, joihin voi olla liitettyä esimerkiksi affinitetiryhmää tai entsyymiä, vangitaan ensimmäiseen astiaan upotetun magneettiyksikön avulla, siirretään magneettiyksikkö toiseen astiaan, ja vapautetaan mikropartikkeleit magneetin vaikutuksesta sopivin eri tavoin kuten keksinnössä kuvataan. Vaihtoehtoisesti mikropartikkeleja ei tarvitse erityisesti irrottaa 35 magneettiyksiköstä.

Magneetti, jonka avulla partikkeleit vangitaan, voi olla joko kestomagneetti tai sähkömagneetti. Magneettien muoto voi soveltuksesta riippuen vaihdella. Magneettikenttä voi olla magneeteissa erilainen: pituussuunnassa magnetoitu magneetti, 36 samansuuntaisesti kuin magneetin halkaisija magnetoitu tai useita magneettinapoja samassa magneettikappaleessa. Yksittäisilä magneetteja voi olla myös liitettyä toisiinsa tai sopivien ferromagneettisten tai el-ferromagneettisten välkkappaleiden avulla.

Suojakalvo voi olla venymätöntä materiaalia kuten esimerkiksi polypropyleeniä, polystyreeniä, polykarbonaattia, polysulfonia ja polyetyleeniä. Suojakalvo voi olla myös ei-ferromagneettista metallia tai ferromagneettista metallia. Suojakalvo voi olla myös venyvää elastomeriista materiaalia kuten esimerkiksi silikonikumaria, fluoroelastomeeriä, polykloropreenia, polyuretaania tai klorosulfonitua polyetyleeniä. Suojakalvo voi myös olla käsitledty erityisillä aineilla ja näin saada suojakalvon ominaisuuksia muutettua. Suojakalvo voi näin olla pinnolitettu esimerkiksi teflonilla (PTFE, Polytetrafluoroethylene). Erityisen tärkeää on voina valita suojamateriaali ja mahdollinen lisäkäsittely sitten, että lopputulos mahdollistaa keksinnön mukaisen toiminnan jopa erittäin volmakkaiden tai syövyttävien kemikaalien kanssa. Suojakalvo voi myös olla muotoiltu sitten, että se mahdollistaa useiden erillisten magneettiyksiköiden suojausen, esimerkiksi 8, 12 tai 96 kanavaissa laitteissa. Suojakalvon muoto voi olla joko putkimainen, levymäinen tai epäsäännöllisesti muotoiltu. Erityisen monia mahdollisuuksia on elastomeeristä suojakalvoa käytettäessä, koska tällöin sisällä oleva magneetti ja ferromagneettinen putki voivat myös muotolla suojakalvoa.

Keksinnössä kuvattava astia tai reaktori voi olla eri materiaaleista valmistettu ja valhtelevan muotoinen. Astiassa voi olla yksi tai useampi aukko nestelen sisään- ja ulosvielintä varten. Astiassa voi olla järjestely, jolla käsitledvävä nestettä kierrätetään uudestaan käsitledväksi astian sisään. Astia voi olla osa suurempaa kokonaisuutta, jossa on useita erilaisia ja erikokoisia astioita liitetynä sopivasti toisiinsa.

Keksinnössä kuvattu ferromagneettinen putki voi olla yksittäinen putki, joukko useampia putkia yhdessä tai järjestely, jossa yksittäiset putket muodostavat erityisen muodostelman putkia. Eräässä keksinnön suoritusmuodossa ferromagneettinen putki voi olla erityinen ferromagneettinen levy, jossa on yksi tai useampi reikä, joissa yksi tai useampi magneetti voi liikkua. Tällainen järjestely on erityisen edullinen käsitledäessä pieniä tilavyuksia esimerkiksi 8, 24, 48, 96 ja 384 kuoppalevy-formaateissa, kuten mikrotiitterilevyissä tai vastaavissa.

Varsinkin erittäin suuria tilavuuksia käsitledäessä voi olla edullista sisällyttää useita magneettiyksikköjä magneettiyksikköryhmäksi, jolloin keräyspintaa suurille mikropartikkelimassioille voidaan entisestään kasvattaa. Lisäksi suojakalvon muotoilulla voidaan saavuttaa edullisia vaihtoehtoja suurten partikkelimassojen käsittelyyn.

Keksinnössä kuvatulla laitteella voidaan kerätä mikropartikkelleita useista eri astioista tai voidaan tehdä järjestely, jossa neste kulkee tasaisena virtana sauvojen ohi.

Jälkimmäisessä tapauksessa on se etu, että siinä suurtenkin tilavuuksien operointinen on suhteellisen vaivatonta. Näissä kummassakin tapauksessa on lähtöoletuksena ollut se, että partikkelimet ovat ensin vapaasti liuoksessa, josta ne sitten kerätään eksinössä kuvatulla menetelmällä.

5

Keksinnön mukaisesti yhden suojakalvon sisällä voi myös olla useita magneettisauvoja suojakalvon sisäkehällä sopivasti järjestettyä. Erityisesti tämä koskee erittäin suurikokolisen suojakalvon tapausta, jolloin käsittellään erittäin suuria nestetilavuuksia. Toinen vaihtoehto on käyttää yhtä erittäin Isoa magneettisauvaa suurikokolisen suojakalvon sisällä.

10

Keksinnön mukaisesti voi olla myös ratkaisu, jossa erikseen on magneettisauvat keräämään mikropartikkaleita ja erityinen laite tai sauva liikuttelemaan nestepintaa sopivasti eksinössä kuvatulla tavalla. Tämä ratkaisu mahdollistaa ratkaisuja, joissa 15 magneettisauvat eivät liiku lainkaan vaan nesteen ja mikropartikkellen liikutus hoidetaan sille erityisesti suunnitellun elimen avulla. Tällaisessa ratkaisussa käytettävä astia tai reaktori on sopivasti suunniteltu vastaamaan kuvattuja tarpeita.

20

Eräässä eksinön mukaisessa sovellusmuodossa on monta erillistä magneettisauvaa, joihin jokaiseen kuuluu oma suojakalvonsa. Nämä magneettisauvat voivat olla ryhmiteity sopivan muodostelman, kuten esimerkiksi viuhaksi riviin, ympyrän kaarelle tai usealle sisäkkäiselle ympyrän kaarelle, jossa jokainen sauva kerää ympärilleen sopivan määrän mikropartikkaleita. Jos tällainen ratkaisu on vielä sijoitettuna suljettuun astiaan tai reaktoriin, jonne voidaan lisätä tarpeen mukaan nestettä, ja jossa voi olla erillinen venttiili, 25 josta käsitetty neste voidaan päästää pois, niin näin aikaan saadulla ratkaisulla voidaan käsittää erittäin suuria nestetilavuuksia. Jos näin kuvattua reaktorityyppiä pidetään kyljellään ja magneettisauvaysteemiä voidaan pyörittää suhteessa reaktorin suojuorin, niin tällaisella ratkaisulla voidaan saada myös sekoitus käsittelyssä nestemäislä näyteltä ja mikropartikkaleita. Mikropartikkelimet voivat olla myös valmiiksi magneettisauvoissa kiinni 30 tai ne voidaan sopivasti prosessin aikana kiinnittää magneettisauvojen suojan päälle ja näin aktiivista pintaa on reaktorissa erittäin paljon. Sekoittamalla saadaan käsittelyvä neste kulkeaan mikropartikkeliin lomitse siten, että halutut komponentit kuten esimerkiksi proteiinit tarttuvat sauvojen pääillä oleviin mikropartikkaleihin. Tolsaalta neste voidaan saattaa mikropartikkeliin lomitse järjestämällä nestevirrakset sopivasti astiaan tai 35 reaktoriinsäillä.

Keksinnön mukaisen laite ja menetelmä ei rajoitu vain esimerkiksi molekyylibiologilaan tai proteiinien puhdistukseen, vaan se on yleisesti sovellettavissa aloilla, joilla voidaan käyttää mikropartikkeleihin sidottuja ligandeja syntetisoimaan, sitomaan, eristämään, puhdistamaan tai rikastamaan haluttuja tekijöitä erilaisista näytteistä: diagnostiset 5 sovellukset, bioläkätiede, patogeenien rikastaminen, kemikaalien syntetisoiminen, bakteerien ja solujen eristäminen.

KEKSINNÖN KÄYTÖSOVELLUKSET

Keksinnön mukainen laite ja menetelmä soveltuu käytettäväksi erittäin monilla 10 sovellusalueilla esimerkiksi proteiinikemian, molekyylibiologian, solubiologian ja proteomikan alueilla. Keksinnöllä on sovelluksia teollisuudessa, diagnostiikassa, analytiikassa ja tutkimuksessa.

15 Proteiinien puhdistuksessa on tarvetta tehdä puhdistuskokeita pienissä tilavuuksissa ja toisaalta kasvattaa kapasiteettia hyvinkin suuriin tilavuuksiin. Kuvatulla eksinnöillä voidaan suorittaa proteiinipuhdistuksia tarpeen mukaan erilaisista näytetilatilavuuksista. Proteiinikemisteillä on tarve pystyä puhdistamaan proteiinia mahdollisimman vähän 20 esikäsittelyistä näytteistä, kuten esimerkiksi solulysaateista (engl. Cell Lysate). Tärkeää on myös voida vahdella puhdistuskapasiteettia muuttuvien tarpeiden mukaan. Nykyään se on mahdollista valhtamalla käytettäviä pylväskokoja. Puhdistuksen edetessä proteiinin konsentroiminen on yksi keskelsistä toimenpiteistä. Käytännössä tämä tarkoitaa nestetilavuuden pienentämistä ilman proteiinien merkittävää häviämistä tai denaturoitumista. Nykyisin yleisimmin käytetyl menetelmät ovat dialyysi tai suodatus. 25 Molemmat ovat erittäin paljon aikaa vieviä menetelmiä. Tässä eksinnössä kuvatulla laitteelle ja menetelmällä voidaan tarjota proteiinialueelle monipuolinen ja vaihteleviin näytetilavuuksin soveltuva menetelmä. Kapasiteetin muuttaminen on helppoa ilman uusien kolonnioiden ostamista tai valmistamista. Yksinkertaisesti valitaan suurempaan näytetilavuuteen suurempi määriä mikropartikkeleita ja proteiinien sitomisen jälkeen kerätään eksinnössä kuvatulla laitteella ja menetelmällä mikropartikkeliit ja proteiini pois 30 liuoksesta. Pesuvaiheet voidaan suorittaa joko samassa astiassa tai valhtamalla astiaa. Edellisessä tapauksessa käytetyt pesupuskurit pitää johtaa pois astiasta ja saada uusi pesupusuri tilalle. Puskurin vaihto voidaan suorittaa myös erilaisilla venttiilijärjestelyillä tai imujärjestelyillä. Pesujen jälkeen voidaan haluttaessa vapauttaa mikropartikkeleihin sitoutuneet proteiinit pieneen tilavuuteen ja konsentroida proteiiniliuos tehokkaasti. 35 Tarpeen mukaan voidaan tilavuuden pienentäminen tehdä vaiheittain pienempää tilavuutta kohti.

Keksinnössä kuvatulla laitteella ja menetelmällä voidaan tehdä esimerkiksi ioninvaliito kromatografiaa, käännetsefaasi kromatografiaa, hydrofobista kromatografiaa ja afinitytestikromatografiaa puhdistuksia. Geelisuodatuksenkin kuvatulla laitteella pystytään, mutta se edellyttää varsinaisen geelisuodatuksen suorittamista esimerkiksi kolonnissa ja

5 tämän jälkeen mikropartikkellen keräämisen keksinnön mukaisella laitteella ja proteiinien ulosajamisen pienseen tilavuuteen. Menetelmä mahdollistaa esimerkiksi suolanpoistamisen näytelstä ilman suurta näytteen laimenemista verrattuna perinteiseen geelisuodatuskolonneihin.

10 Immobilisoitujen entsyymien käyttäminen erilaisten proteiinien, sokerien, rasvojen ja erilaisten nk. biopolymeerien prosessoimisessa on erittäin tärkeä sovellusalue kuvatulle keksinnölle. Tärkeä ominaisuus verrattuna ilukoisten entsyymien käyttämiseelle on immobilisoitujen entsyymien helppo uudelleenkäyttömahdollisuus. Kuvatulla keksinnöllä immobilisoidun entsyymin peseminen jatkokäytööä varten on erittäin helppoa ja tehokasta.

15 Esimerkkejä keskelsistä, muun muassa teollisuudessa käytetyistä entsyymiryhmistä ja yksittäisistä entsyymeistä ovat:

- **KARBOHYDRAASIT:** Alpha-Amylases, Beta-Amylase, Cellulase, Dextranase, Alpha-Glucosidase, Alpha-Galactosidase, Glucoamylase, Hemicellulase, Pentosanase, Xylanase, Invertase, Lactase, Pectinase, Pullulanase
- **PROTEAASIT:** Acid Protease, Alkaline Protease, Bromelain, Flcn, Neutral Proteases, Papain, Pepsin, Peptidases, Rennin, Chymosin, Subtilisin, Thermolysin, Trypsin
- **LIPAASIT AND ESTERAASIT:** Triglyceridases, Phospholipases, Esterases, Acetylcholinesterase, Phosphatases, Phytase, Amidases, Aminoacylase, Glutaminase, Lysozyme, Penicillin Acylase
- **ISOMERAASIT:** Glucose Isomerase, epimerases, racemases
- **OKSIDOREDUKTAASIT:** Amino Acid Oxidase, Catalase, Chloroperoxidase, Glucose Oxidase, Hydroxysteroid Dehydrogenase, Alcohol dehydrogenase, Aldehyde dehydrogenase, Peroxidases
- **LYAASIT:** Acetolactate Decarboxylase, Aspartic Beta-Decarboxylase, Fumarase, Histidase, DOPA decarboxylase
- **TRANSFERAASIT:** Cyclodextrin Glycosyltransferase, Methyltransferase, Transaminase, Kinases
- 35 - **LIGAASIT**
- **FOSFATAASIT:** Alkaline Phosphatase

Entsymien käyttäminen on erittäin yleistä monilla eri teollisuuden haaroilla, joista seuraavassa muutamia esimerkkejä: lipidien, proteiinien, peptidien, steroidien, sokerien, aminohappojen, lääkeaineiden, muovien, hajusteiden, kemikaalien ja nk. chiral kemikaalien synteesit ja modifiointi.

5. Myös erilaiset glykobiologiaan liittyvät syntetisoivat ja pilkkovat entsyymit kuten esimerkiksi endo- ja exoglykosidaasit kuuluvat keksinnön piiriin. Samaten molekyylibiologian sovelluksista tutut entsyymit kuten restriktioentsyymit, nukleaasit, ribozymes, polymerasit, ligaasit, käännetranskriptaasit, kinaasit ja fosfataasit kuuluvat keksinnössä 10 kuvatun menetelmän piiriin. Esimerkkeinä DNA/RNA modifioivista entsyymeistä voidaan mainita: CIAP (Calf Intestinal Alkaline Phosphatase), E. Coli alkaline phosphatase, eksoneukleaasit (esimerkiksi P1 nukleaasi, S1 nukleaasi), ribonukleaasit, RNAsit (esim. Pancreatic RNAsi, RNAsi H, RNAsi T1, RNAsi M, RNAsi T2), DNA ligaasit, RNA ligaasit, DNA polymerasit, Klenow entsyymi, RNA polymerasit, DNA kinaasit, RNA 15 kinaasit, terminal transferaasit, AMV reverse transcriptase ja fosfodiesterasit. Näiden ja muiden DNA/RNA modifioivien entsyymien käyttö on erittäin monimuotoista sekä molekyylibiologian tutkimuksessa että sovelluksissa. Proteomiikassa ja proteiinikemiassa proteaasit ovat erittäin tärkeitä entsyymejä, joista eräitä esimerkkejä ovat trypsiini, kymotrypsiini, papaiini, pepsiini, collagenaasi, dipeptidyl-peptidaasi IV ja erilaiset 20 endoproteinaasit. Synteettiset entsyymit, katalyyttiset vasta-aineet ja multientsyymikompleksit ovat mahdollisia käytettäväksi keksinnössä kuvatulla tavolla. Keksinnön käyttöä ei myöskään rajoita entsyymien ja muiden katalyyttisten komponenttien käyttö vedettömässä olosuhteissa esimerkiksi orgaanisessa liuottimissa.

25 Konkreettisina esimerkkeinä keksinnön sovelluksista molekyylibiologian alalla voidaan mainita:

DNA INSERTTIEN KLOONAUUS:

DNA inserttien kloonauksessa tarvitaan restriktioentsyymejä, (Esim. EcoR I, Hind III, Bam HI, Pst I, Sal I, Bgl II, Kpn I, Xba I, Sac I, Xho I, Hae III, Pvu II, Not I, Sst I, Bgl I), creating blunt ends (esim. lämpöstabililit polymerasit, Klenow Fragment DNA Polymerase I, Mung Bean nukleaasi), ligaatiot (esim. T4 DNA Ligase, E. coli DNA Ligase, T4 RNA Ligase), fosforyointi (esim. T4 Polynucleotide Kinase), defosforylaatio (esim. CIAP, E. coli Alkaline Phosphatase, T4 Polynucleotide Kinase) ja deleetiot (esim. T4 DNA Polymerase, 30 lämpöstabililit polymerasit, Exo III Nuclease, Mung Bean Nuclease)

cDNA:n SYNTETISOINTI JA KLOONAUUS:

Reverse Transcriptase, RNase H, DNA polymerase I, T4 DNA polymerase I, E. coli DNA Ligase.

NUKLEIINIHAPOJEN LEIMAUS:

- 5 5' leimaus (esim. T4 Polynucleotide Kinase), 3' addition (esim. T4 RNA Ligase), 3' fill-in (esim. Klenow Fragment DNA Polymerase I, T4 DNA Polymerase), 3' exchange (esim. T4 DNA Polymerase, lämpöstabililit polymeraasit), nick-translation (esim. E. coli DNA Polymerase I, lämpöstabililit polymeraasit), replacement synteesi (esim. T4 DNA Polymerase, lämpöstabililit polymeraasit, Exo III Nuclease), random priming (esim. Klenow Fragment DNA Polymerase I, lämpöstabililit polymeraasit) ja RNA koettimet (esim. T7 RNA Polymerase, SP6 RNA Polymerase).
- 10

NUKLEIINIHAPOJEN SEKVENTOINTI:

- 15 DNA:n sekventointi (esim. E. coli DNA Polymerase I, Klenow Fragment DNA Polymerase I, lämpöstabililit polymeraasit) ja RNA:n sekventointi (esim. Reverse Transcriptase, lämpöstabililit kääntelstanskriptaasit).

NUKLEIINIHAPOJEN MUTAGENOINTI:

- 20 Oligonucleotide directed (esim. T4 DNA Polymerase, T7 DNA Polymerase, lämpöstabililit polymeraasit) ja Misincorporation (esim. Exo III Nuclease, Klenow Fragment DNA Polymerase I, lämpöstabililit polymeraasit).

MAPPING:

- 25 Restriction (esim. Exo III Nuclease), Footprinting (esim. Exo III Nuclease) ja Transcript (esim. Reverse Transcriptase, Mung Bean Nuclease).

NUKLEIINIHAPOJEN PUHDISTAMINEN:

Genomisen DNA:n, PCR fragmenttien, DNA/RNA koettimien ja plasmidi DNA:n eristäminen ja puhdistaminen.

30

DNA DIAGNOSTIC TECHNIQUES:

- 35 DNA Mapping, DNA:n sekvenointi, SNP-analysit (Single Nucleotide Polymorphism), kromosomianaalyysit, DNA kirjastot, PCR (Polymerase Chain Reaction), Inverse PCR, LCR (Ligase Chain Reaction), NASBA (Nucleic Acid Strand-Based Amplification), Q beta replicase, Ribonuclease Protection Assay.

DNA DIAGNOSTIKKAA:

RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), AFLP (Amplified Fragment Polymorphism), bakteeri-infektioiden diagnostiikka, bakteerien antibioottiresistenttiyks DNA fingerprints, SAGE (Serial Analysis of Gene Expression) ja DNA:n sekvenointi.

5 Solujen eristämisessä kuvattua menetelmää voidaan käyttää myös laajasti hyväksi. Klinnostavia soluja ovat muiden muassa kantasolut, B-lymfosyytit, T-lymfosyytit, endoteeliset solut, granylosyytit, Langerhansinsolut, leukosyytit, monosyytit, makrofagit, myeloid cells, NK solut (engl. Natural Killer Cells), retikulosyytit, trophoblasts, syöpäsolut, transfektoidut solut ja hybridoomasolut. Solujen eristämisessä voidaan käyttää yleisesti tunnettuja menetelmiä kuten esimerkiksi suoraa tai käänteistä solujen eristämistapaa. Ensin mainitussa, suorassa eristämistavassa, halutut solut kerätään erilleen näytteestä sitomalla ne mikropartikklein pintaan esimerkiksi spesifisiä vasta-aineita hyväkeikäytämällä. Epäsuorassa menetelmässä hajuttuja soluja ei sidota mikropartikkeliin kinni vaan kaikki muut näytteessä olevat solut. Halutut solut jäävät tähän tapauksessa liuokseen.

20 Bakteerien, virusten, hiivojen ja monien muiden yksi tai monisolustien elliöiden eristämiseen, puhdistamiseen ja/tai rikastamiseen keksinnössä kuvattu menetelmä soveltuu hyvin. Erityisen tärkeä sovellusalue on patogeenisten bakteerien, virusten, parasiittien, alkueläinten tai muiden pieneliöiden rikastaminen isosta neste-tilavuudesta. Keksinnössä kuvattua laitetta ja menetelmää voidaan hyödyntää myös näillä sovellusalueilla.

25 Biokatalyyssillä ymmärretään yleisesti bakteerien, entsyymien tai muiden entsyymejä sisältävien komponenttien käyttämistä prosessissa. Entsyymit tai bakteerit voivat olla immobilisoituja sopivan klinkokaritajaan ja käsiteltävä aine saatetaan immobilisoitujen komponenttien kanssa yhteyteen esimerkiksi perinteisiä kolonneja käytämällä. Tämän keksinnön mukaisesti soluja tai entsyymejä voidaan kiinnittää sopivasti mikropartikkeliin, joita sitten käytetään keksinnön mukaisesti suorittamaan erilaisia entsymaattisia reaktioita.

30 Soluorganellien ja erilaisten solufraktioiden eristäminen kuuluu myös keksinnön sovellusalueiden piiriin. Soluorganellit voidaan eristää normaaliiin tapaan käytämällä hyväksi esimerkiksi spesifisiä vasta-aineita tai erilaisia affinitettiligandeja.

35 Nukleelihappojen puhdistuksessa on hyvin erilaisia tarpeita lähtien aivan pienien DNA (Deoxyribonucleic Acid), RNA (Ribonucleic Acid) tai mRNA (Messenger RNA) määrien puhdistuksesta suuriin monien litrojen käsittelytarpeisiin. Tämän keksinnön mukaisella

menetelmällä voidaan sekä suurista että pienistä näytämääristä eristää nukleinhappo tehokkaasti.

Menetelmän avulla voidaan kehittää eristys- ja puhdistustapahtumia erilaisien tarpeiden mukaan. Voidaan esimerkiksi ensin eristää halutut solut näytteestä ja puhdistaa ne. Tämän jälkeen soluista voidaan eristää esimerkiksi soluorganellit erillään. Soluorganellit puhdistetaan ja prosesssi voi jatkua esimerkiksi DNA:n tai proteiinin puhdistamiseen. Prosessin aikana voidaan vaihdella erilaisilla päälystyksillä ja ominaisuuksilla varustettuja mikropartikkeleita tarpeiden mukaan. Vilmeinen vaihe on puhdistetun tuotteen konsentroiminen haluttuun tilavuuteen.

LYHYT SELOSTUS PIIRUSTUKSISTA

Kuviot 1A-1G esittävät kaaviollisesti keksinnön mukaisen mikropartikkellen siirtolaitteen magneettiyksikön eri sovellusmuotoja leikattuna.

15 Kuviot 2A-2G esittävät kaaviollisesti magneettiyksikön magneettien eri sovellusmuotoja ja niiden magneettikenttiä.

Kuviot 3A ja 3B esittävät kaaviollisesti magneettiyksikön sovellusmuotoja sijoitettuna mikropartikkeleita sisältävään liuokseen.

Kuviot 4A-4B vastaavat kuvioita 3A ja 3B ja esittävät magneettiyksikön toisia sovellusmuotoja liuoksessa.

20 Kuviot 5A-5E esittävät venymättömällä suojakalvolla ja pituussuuntaisesti magnetoidulla magneettilla varustetun magneettiyksikön sovellusmuotoja liuoksessa.

Kuviot 6A-6E esittävät venymättömällä suojakalvolla ja poikittaisuuntaisesti magnetoidulla magneettilla varustetun magneettiyksikön sovellusmuotoja liuoksessa.

25 Kuviot 7A-7E esittävät venyvällä suojakalvolla ja pituussuuntaisesti magnetoidulla magneettilla varustetun magneettiyksikön sovellusmuotoja liuoksessa.

Kuviot 8A-8E esittävät venyvällä suojakalvolla ja poikittaisuuntaisesti magnetoidulla magneettilla varustetun magneettiyksikön sovellusmuotoja liuoksessa.

30 Kuviot 9A-9G esittävät magneettiyksikön käytön vaiheita siirrettäessä mikropartikkeleita astiasta toiseen.

Kuvio 10 esittää käsin käytettävää mikropartikkeliä siirtolaitetta sivulta pään nähtynä ja leikattuna.

Kuvio 11 esittää käsin käytettävää mikropartikkeliä monikanavaisilolaitetta sivulta pään nähtynä ja leikattuna.

35 Kuvio 12 esittää kaaviollisesti siirtolaitteautomaattia.

PIIRUSTUSTEN YKSITYISKOHTAINEN SELOSTUS

Kuviossa 1A on esitetty keksinnön mukaisen magneettiyksikön 10 sovellutusmuoto, johon kuuluu ferromagneettinen putki 12, jonka sisällä on tankomainen kestomagneetti 13, jota liikutetaan tangon tai siirtotapin 11 välityksellä. Magneettin 13 ja tangon 11 välistä liittymäkohtaa on merkity viitenumeroilla 14 ja putken 12 päässä olevaa aukkoa

5 viitenumeroilla 15. Liikuttamalla tankoa 11 ja sen sisällä olevaa putkea 12 aksiaalisesti toistensa suhteen, tankomaisen magneettin 12 pää työntyy ulos putken 12 pään aukosta.

10 15. Toinin sanoen tankoa 11 ja siihen liitettyä magneettia 13 voidaan liikuttaa putken 12 sisällä, tai putkea 12 vollaan liikuttaa, jolloin tanko 11 ja magneetti 13 pysyvät paikoillaan. Vaihtoehtoisesti myös molemmat osat 12 ja 13 voivat liikkua. Kaikilla näillä vaihtoehtoisilla 10 tavilla saadaan magneetti 13 työnnetyksi ulos putken 12 päässä olevasta aukosta 15 ja jälleen takaisin putken 12 sisään.

Kuviossa 1A tangon 11 halkaisija on suurempi kuin magneettin 13 halkaisija. Magneetti 13 on liitetty tankoon 11 siten, että magneettin 13 pää on työnnetty tangon 11 päässä olevaan koloon. Kolon ja magneettin 13 välillä on riittävän tiukka sovite, joka pitää magneettin 13 ja tangon liittynä toisiinsa. Koska ferromagneettisen putken 12 sisähalkaisija on tässä ratkaisussa suurempi kuin magneettin 13 halkaisija, niin joissakin tapauksissa se saattaa olla haitallista.

20 Kuviossa 1B on esitetty magneettiyksikön 10 toinen sovellutusmuoto, jossa magneettin 13 ja tangon 11 halkaisijat ovat yhtä suuria. Magneettin 13 ja tangon 11 välisenä liitoselimenä on ohutseinäinen holki 16, jonka sisään sekä tangon 11 että magneettin 13 päät on työnnetty. Ohutseinäisen holkin 16 sisähalkaisija on muodostettu sellaiseksi, että holkin 16 ja magneettin 13 välinen sovite sekä holkin 16 ja tangon 11 välinen sovite ovat riittävän 25 tiukat pitämään nämä osat liittynä toisiinsa. Koska holki 16 on ohutseinäinen, niin magneettin 13 halkaisija voi olla lähes yhtä suuri kuin ferromagneettisen putken 12 sisähalkaisija.

Kuviossa 1C on esitetty magneettiyksikön 10 kolmas sovellutusmuoto, jossa 30 ferromagneettisen putken 12 pään suuaukko 15 on supistettu. Näin saadaan magneettin 13 ja putken 12 välis sopivaksi, vaikka putken 16 sisähalkaisija ollakin selvästi suurempi kuin magneettin 13 halkaisija.

Kuviossa 1D on esitetty magneettiyksikön 10 neljäs sovellutusmuoto, jossa magneettin 13 ja tangon 11 välinen liitos 14 on toteutettu liimalla. Tässä ratkaisussa magneettin 13 ja tangon 11 halkaisijat ovat yhtä suuret, jolloin niiden ja putken 11 sisäpinnan välillä voidaan tehdä sopivan pieneksi.

Kuviossa 1E on esitetty magneettiyksikön 10 viides sovellusmuoto, jossa magneetin 13 ja tangon 11 liittäminen toisiinsa magneetin 13 oman magneettivolman avulla siten, että magneetti 13 vetää tangon 11 riittävän tiukasti kiinni magneettiin 13. Ratkaisu toimii alnoastaan, jos tanko 11 on ferromagneettista materiaalia. Myös tässä ratkaisussa magneetin 13 ja tangon 11 halkaisijat ovat yhtä suuret.

Kuviossa 1F on esitetty magneettiyksikön 10 kuudes sovellusmuoto, jossa tangon 11 päähän muodostettu uloke, joka on työnnetty magneetin 13 päähän muodostettuun koloon. Liitoskohdassa 14 ulokkeen ja kolon välinen sovite on tehty riittävän tiukaksi pitämään nämä osat liitettyinä toisiinsa.

Kuvio 1G on esitetty magneettiyksikön 10 seitsemäs sovellusmuoto, jossa on kestomagneetin asemesta sähkömagneetti. Tässä ratkaisussa tanko 11 on ferromagneettista materiaalia ja sen toisen pään ympärille on sijoitettu käämi 27, joka indusoii magneettikentän tankoon 11 silloin, kun jännitelähde on kytketty käämille 27. Näin ollen tanko 11 toimii sähkömagneettina, jolloin erillistä, siihen liitettyvää kestomagneettia ei tarvita.

Kuviossa 2A on esitetty magneettiyksikön 10 sovellusmuoto, jossa magneetin 13 kinnitystapa vastaa kuvion 1B ratkaisua eli magneetti 13 on liitetty tankoon 11 holkin avulla. Kuviossa 1B ei ollut kuitenkaan mainittu mitään magneetin magnetointisuunnasta. Kuvion 2A magneettiyksikössä 10 magneetin 13 magnetointisuunta on magneetin 13 pituusakselin suuntainen.

Kuviossa 2B esitetty magneettiyksikön 10 sovellusmuoto vastaa kuvion 2A ratkaisua muissa suhteissa, mutta magneetin 13 magnetointisuunta on poikittainen eli kohtisuoraan magneetin 13 pituusakselia vastaan. Sekä kuviossa 2A että kuvossa 2B magneetti 13 voidaan kuitenkin liittää tankoon 11 myös millä muulla tavalla tahansa.

Kuvioissa 2C-2G on esitetty kaaviollisesti magneettiyksikön 10 magneetin 13 aikana saama magneettikenttä eri sovellusmuodoissa.

Kuviossa 2C on esitetty magneettiyksikön 10 magneetti 13 on magnetointu pituussuuntainen, kuten kuvossa 2A. Kuvion 2C esittämässä tilanteessa magneetin 13 toinen pää on osittain työnnetty putkesta 12 ulos, jolloin sen magneettikenttä 17 ulottuu magneetin 13 kauimmaisesta päästä putken 12 päähän. Suurin magneettivuotihveys tällä

ratkaisulla saadaan magneetin 13 vapaan pään ympärillä, jota aluetta on kuviossa 2C merkitty viidenumerolla 18. Kuvatulla ratkaisulla saadaan magneettipartikkeliit kerääntymään pääosin vain magneetin 13 tähän päähän, jolloin kerättävän partikkelimassan määriä on rajoitettu.

5 Kuviossa 2D on esitetty magneettiyksikön 10 magneetin 13 magneettikenttä silloin, kun magneetin 13 magnetointiakseli on poikkisuuntainen eli kuvion 2B mukainen. Tässä tapauksessa aikaansaatu magneettikenttä 19 on tasaisesti jakautuneena koko magneetin 13 yli, jolloin magneettipartikkeliien keräyspinta on suurin mahdollinen.

10 Mikäli kuitenkin halutaan rajata magneettiyksikön 10 magneetin 13 keräyspintaa, niin magneetti 13 voidaan jättää osittain ferromagneettisen putken 12 sisään. Tällainen tilanne on esitetty kuviossa 2E. Tällöin magneetin 13 keräyspinta 20 on hieman pienempi kuin kuvion 2D esittämässä tilanteessa.

15 Kuvioissa 2F ja 2G on esitetty kaaviosisestä polkkileikkaukset kahdesta eri tavalla poikittain magnetoidusta magneettiyksikön 10 magneestista 13. Kuviossa 2F magneetti 13 on jaettu pituusakselin suuntaisella tasolla kahteen osaan. Kuviossa 2G magneetti 13 on jaettu vastaavasti neljään pituussuuntaiseen osaan. Kuvioista 2F ja 2G nähdään, että 20 magneettikentät ovat niissä erilaisia, koska magneettikentät sijoittuvat hieman eri tavoin. Kuitenkin molemmat ratkaisut ja kaikki niiden variaatiot ovat yhtä käytökelpoisia.

25 Kuvioissa 3A on esitetty magneettiyksikkö 10 mikropartikkeliiden 22 keräämiseksi astiassa 26, kuten koeputkessa olevasta liuoksesta 23. Suojakalvolla 21 suojattu magneetti 13 on klinnitetty tankoon 11, joka ei ole ferromagneettinen. Kuviossa 3A magneetti 13 on kokonaan nestepinnan 25 alapuolella niin, että magneetin 13 etäisyys nestepinnasta 25 on h. Kuvion 3A magneetti 13 on magnetoitu magneetin 13 pituusakselin suuntaisesti. 30 Mikropartikkeliit 22 kerääntyvät tällöin astiassa 26 olevasta liuoksesta 23 magneetin 13 kummankin navan 24a ja 24b kohdalle suoja- ja ulkopuolelle, sekä alvan suoja- ja ulkopuolelle. Tämä on normaali tilanne silloin kun magneetti 13 on kokonaan liuoksen 23 nestepinnan 25 alapuolella.

35 Kuviossa 3B on esitetty magneettiyksikön 10 toinen sovellutusmuoto, johon myös kuuluu suoja- ja ulkopuolelle suojattu magneetti 13, joka on kokonaan nestepinnan 25 alapuolella etäisyydellä h nestepinnasta 25. Tämä sovellutusmuoto vastaa kuvion 3A sovellutusmuotoa muissa suhteissa, mutta magneetti 13 on magnetoitu poikittain. Kuviosta

3B nähdään, että mikropartikkeliit 22 kerääntyvät nyt suurelle alueelle suojakalvon 21 ulkopuolelle. Edullisinta olisi kuitenkin saada kaikki mikropartikkeliit 22 kerätyksi aivan magneettiyksikön 10 kärjen alaosaan. Se on erityisen edullista silloin, kun mikropartikkeliit 22 halutaan siirtää pieneen nestetilavuuteen. Kuviossa 3B mikropartikkeliit 22 eivät 5 keräänyt pienelle alueelle eivätkä erityisesti suojakalvon 21 alaosan tuntumaan. Siksi tämä vaihtoehto ei ole erityisen edullinen silloin, kun halutaan konsentroida mikropartikkeleita 22 pieniin nestetilavuksiin.

Kuviossa 4A on esitetty koeputkessa 26 olevaan liuokseen 23 sijoitettu magneettiyksikkö 10 sekä mikropartikkeliit 22 kerääntymisen magneettiyksikön 10 suojakalvolla 21 suojattujen magneettien 13 alaosan tuntumaan. Kuviossa 4A magneetti 13 ja molemmat magneettinavat 24a ja 24b ovat kokonaan nestepinnan 25 alapuolella. Mikropartikkeliit eivät kuitenkaan keräänyt muualle kuin suojakalvon 21 alaosan, koska magneetin 13 ylänapa 24b on onnistuttu oikosulkemaan viemällä ferromagneettinen putki 12 sopivasti magneetin 13 päälle. Magneelin 13 ylänavan 24b kohdalla ferromagneettisen putken 12 ulkopuolella ei ole magneettikenttää, minkä vuoksi suojakalvon 21 ulkopuolella ei havaita mikropartikkeleita 22. Kuvatulla magneettiyksiköllä 10 voidaan konsentroida mikropartikkeleita 22 pieniin nestetilavuksiin vaikka magneetti 13 on kokonaisuudessaan nestepinnan 25 alapuolella ja se on klinnitettu ei-ferromagneettiseen tankoon 11.

20 Kun kuvion 4A esittämässä tilanteessa magneetti 13 siirretään kokonaan ferromagneettien putken 12 sisään, niin magneetin 13 magneettikenttä polstuu lähes kokonaan. Mikropartikkeliit 22 voidaan näin vapauttaa suojakalvon 21 pinnalta yksinkertaisesti vain viemällä magneetti 13 kokonaan ferromagneettisen putken 12 sisälle. Mikropartikkeleita 22 25 voidaan siirtää astiosta 26 toisiin suojakalvon 21 pinnalle sitoutuneena, jolloin magneetti 13 on sopivasti ferromagneettisen putken 12 ulkopuolella.

Kuviossa 4B on esitetty magneettiyksikkö 10, joka vastaa kuvion 4A soveltuusmuotoa muissa suhteissa, mutta magneetti on magnetoitu polkittain. Kuviossa 4B 30 poikittaissuunnassa magnetoidun magneetin 13 magneettikenttää on pienennetty ferromagneettisen putken 12 avulla. Kuvion 4B esittämässä tilanteessa magneetti 13 on enää hyvin vähän ferromagneettisen putken 12 ulkopuolella. Kuviosta 4B nähdään, että poikittaisuuntaisesti magnetoidulla pitkällä magneetilla 13 ja suojaputkella 12 voidaan yksinkertaisesti konsentroida mikropartikkeliit 22 aivan suojakalvon 21 alaosaan. Näin ollen 35 molemmissa kuvioissa 4A ja 4B on esitetty edulliset ja tehokkaat menetelmät ja laitteet mikropartikkeleiden käsittelemiseksi pienissä nestetilavuksissa.

Kuvioissa 5A-5E on esitetty valheittein mikropartikkeliin 22 kerääminen venymättömällä suojakalvolla varustetun magneettiyksikön 10 avulla liuoksesta 23. Magneetti 13 ja ferromagneettinen putki 12 ovat liikutettavissa toistensa suhteen aksiaalisesti ja magneetti 13 on magnetoitu sen pituusakselin suuntaiseksi.

5 Kuvioissa 5A-5E on esitetty myös erilaisia tapoja konsentroida mikropartikkelit ferromagneettisen putken 12 ja magneettin 13 avulla aivan suojakalvon 21 alaosan ja vapauttaa ne esimerkiksi pienin nestetilavuuksiin.

10 Kuviossa 5A on esitetty magneettiyksikkö 10, jonka magneetti 13 on työnnetty ulos ei-ferromagneettisen tangon 11 avulla ferromagneettisesta putkesta 12, jolloin magneettin 13 magneettikenttä on pääasialla suojakalvon 21 alaosassa. Tällöin myös mikropartikkelit 22 keräätyvät suojakalvon 21 alaosan. Myöskään seuraavissa esimerkeissä magneettia liikuttava tanko 11 ei ole ferromagneettinen.

15 Kuvossa 5B on esitetty kuvion 5A magneettiyksikkö 10 siten, että sen magneetti 13 on toisessa asennossa. Kuvossa 5B magneetti 13 on siirretty lähes kokonaan ferromagneettisen putken 12 sisään putken pysyessä paikallaan. Tällöin osa mikropartikkeleista 22 siirtyy liuoksessa 23 suojakalvoa 21 pitkin ylöspäin.

20 Kuvossa 5C on esitetty kuvion 5B magneettiyksikkö 10 siten, että sen magneetti 13 on vedetty kokonaan putken 12 sisään, jolloin mikropartikkelit 22 ovat hajaantuneet liuokseen 23. Nämä ollen magneettikenttä ei silloin, kun magneettia 13 liikutetaan suojakalvon 21 alaosasta ylöspäin, ole paras mahdollinen keräämään mikropartikkeleita 22 suojakalvon 21 sivuosaan. Se johtuu magneettin 13 magneettikentän ja sen magneettinapojen sijainnista ja vetovoimasta käytettävän suojakalvon 21 suhteen. Nämä ollen tärä vaihtoehto on mahdollinen, muttei edullisin mikropartikkeliin irrottamiseen suojakalvon 21 pinnalta. Optimoimalla mikropartikkelit 22 ja magneettin 13 liikenopeus ylöspäin voidaan kuitenkin saavuttaa hyvä lopputulos, eli mikropartikkelit jäävät aivan suojakalvon 21 alaosan tuntumaan.

25 Kuviossa 5D on esitetty vaihtoehtoinen ja tehokas tapa irrottaa mikropartikkeli 22 hallitusti kuvion 5A magneettiyksikön 10 suojakalvon 21 alaosasta esimerkiksi pieniin tilavuuksiin. Kuviossa 5B esitetyn magneettin 13 ylöspäin tapahtuvan liikkeen asemesta kuviossa 5D liikutetaankin nyt ferromagneettista putkea 12 alaspäin. Kuvista nähdään, että tällöin mikropartikkelit 22 eivät siirry suojakalvoa 21 pitkin ylöspäin.

Kuviossa 5E on esitetty kuvion 5D magneettiyksikkö 10 siten, että ferromagneettinen putki 12 on s溜retty kokonaan magneetin 13 p鋘ille. Kuviosta n鋓hd鋓n, etta t鋘noin mikropartikkeliit 22 -j鋙avt luoressa 23 paremmin paikoilleen koeputken 26 alaosaan magneettiyksik遱n 10 p鋘n l鋗eisyyteen.

5

Kumpikaan kuvioissa 5B-5C tai kuvioissa 5d-5E esityyst鋏 tavoista ei kuitenkaan ole erityisen edullinen erittain suurten suojakalvojen keräämiseen ja k鋗ittelyyn.

10 Kuviossa 6A-6E on esitetty vaiheittain magneettipartikkeliin 22 kerääminen venymättömällä suojakalvolla 21 varustetun magneettiyksik遱n 10 avulla, jossa magneetti 13 tai ferromagneettista putkea 12 liikutetaan ja kun magneetti 13 on magnetituu poikittain.

15

Kuviossa 6A on esitetty magneettiyksikkö 10, jonka polkittaissuunnassa magnetoitu magneetti 13 on työnnetty ulos ferromagneettisen putkesta 12, joka peittää ainoastaan pieni osa magnetista 13. Tällöin mikropartikkeliit 22 keräytyvät magneettiyksikön 10 suojakalvon 21 ulkopuolelle.

20

Kuviossa 6B on esitetty kuvion 6A magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa magneetti 12 on s溜retty ylöspäin lähes kokonaan ferromagneettisen putken 12 sisään. Tällöin suuri osa suojakalvon 21 alaosassa olevista mikropartikkeliista 22 siirtyy magneetin 13 mukana ylöspäin.

25

Kuviossa 6C on esitetty kuvion 6B magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa magneetti 13 on kokonaan ferromagneettisen putken 12 sisällä. Tällöin mikropartikkeliit 22 vapautuvat ympäröivään luoseen 23. Nämä ollen tämä tapa ei sovi mikropartikkeliin 22 konsentroimiseen suojakalvon 21 alaosan ja siirtämiseen esimerkiksi pimeen nestetilavuuteen.

30

Kuviossa 6D on esitetty kuvion 6A magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa ferromagneettista putkea 12 on s溜retty alaspäin lähes kokonaan magneetin 13 p鋘ille. Mikropartikkeliit 22 liikkuvat samalla putken 12 mukana sopivasti alaspäin.

35

Kuviossa 6E on esitetty kuvion 6D magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa ferromagneettinen putki 12 peittää magneetin 13 kokonaan. Kuviosta n鋓hd鋓n, etta tällä tavoin mikropartikkeliit 22 voidaan tehokkaasti konsentroida magneettiyksikön 10 suojakalvon 21 alaosan tuntumaan. Nämä ollen tämä ratkaisu sopii hyvin sekä suurten

mikropartikkelimääriin keräämiseen että mikropartikkelien konsentroimiseen pieniin nestetilavuuksiin.

5 Kuvioissa 7A-7E on esitetty valheittein mikropartikkelien 22 kerääminen venyvällä suojakalvolla 21 varustetun magneettilyksikön 10 avulla siten, että liikutetaan joko magneettia 13 tai ferromagneettista putkea 12. Magneetti 13 on magnetoitu pituussuuntaisesti.

10 Kuviossa 7A on esitetty magneettilyksikkö 10, jossa pituussuuntaisesti magnetoitu magneetti 13 on työnnetty ulos ferromagneetilisesta putkesta 12 niin, että se samalla venytää venyvää suojakalvoa 21. Tällöin mikropartikkelim 22 keräytyvät magneetin 13 pään läheisyyteen venytetyn suojakalvon 21 alaosaan. Suojakalvon 21 venymisen johdosta suojakalvon 21 paksuus on samalla pienentynyt, jolloin magneettikenttä on samalla kasvanut suojakalvon 21 ohenemisen myötä.

15 Kuviossa 7B on esitetty kuvion 7A magneettilyksikkö 10 asennossa, jossa magneetti 13 on liikutettu ylöspäin ferromagneettisen putken 12 sisälle. Samanaikaisesti myös venytetty suojakalvo 21 palautuu ylöspäin. Tästä seuraa se, että ylöspäin liikkuvan suojakalvon 21 alaosan kohdistuu edelleen riittävä magneettikenttä pitämään mikropartikkelim 22 20 kerääntyneenä suojakalvon 21 päälle.

25 Kuviossa 7C on esitetty kuvion 7B magneettilyksikkö 10 asennossa, jossa magneetti 13 on vedetty kokonaan putken 12 sisälle ja mikropartikkelit 22 ovat vapautuneet magneettikentästä. Tällä tavalla mikropartikkelim 22 voidaan hyvin konsentroida suojakalvon 21 alaosan ja siirtää edelleen pieneen nestetilavuuteen.

30 Kuviossa 7D on esitetty kuvion 7A magneettilyksikkö 10 asennossa, jossa ferromagneettista putkea 12 on liikutettu alaspäin magneetin 13 pääle. Magneetti 13 ei liiku vaan pitää suojakalvon 21 edelleen venytettynä. Magneettikenttä on suojakalvon 35 venytyksestä johtuen erittäin suuri ja mikropartikkelim 22 pysyvä erittäin hyvin kiinni suojakalvossa 21.

35 Kuviossa 7E on esitetty kuvion 7D magneettilyksikkö 10 asennossa, jossa ferromagneettinen putki 12 on siirretty kokonaan magneetin 13 pääle. Tällöin magneettikenttä polstuu ja mikropartikkelim 22 vapautuvat nesteesseen 23. Tämä tapa soveltuu erittäin hyvin konsentroimiseen pieniin nestetilavuuksiin.

Kuvioissa 8A-8E on esitetty vaiheittain mikropartikkeliin 22 kerääminen venyväällä suojakalvolla 21 varustetun magneettiyksikön 10 avulla siten, että liikutetaan joko magneettia 13 tai ferromagneettista putkea 12. Magneetti 13 on magnetoitu poikittain.

- 5 Kuviossa 8A on esitetty magneettiyksikkö 10, jossa poikittaisuuntaisesti magnetoitu magneetti 13 on työnnetty ulos ferromagneettisen putken 12 nlin, että se samalla venytää venyvää suojakalvoa 21. Tällöin mikropartikkeliit 22 keräytyvät magneetilla 13 venytetyn suojakalvon 21 ympärille erittäin suurelle alueelle.
- 10 Kuviossa 8B on esitetty on esitetty kuvion 8A magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa magneetti 13 on liikutettu ylöspäin ferromagneettisen putken 12 sisälle. Kun magneetti 13 liikutetaan ylöspäin, nlin venytetty suojakalvo 21 palautuu samalla alkuperäiseen muotoonsa eli magneetin 13 mukana ylöspäin. Mikropartikkeliit 22 liikkuvat mukana ja koko mikropartikkelimassa voidaan konsentroida pienelle alueelle suojakalvon 21 kärkiosaan.
- 15 Kuviossa 8C on esitetty on esitetty kuvion 8B magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa magneetti 13 on vedetty kokonaan ferromagneettisen putken 12-sisälle. Tällöin mikropartikkeliit 22 vapautuvat magneettikentästä liuokseen 23.
- 20 Kuviossa 8D on esitetty kuvion 8A magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa ferromagneettista putkea 12 on liikutettu alas päin magneetin 13 päälle. Magneettipartikkeliit 22 voidaan tässä, kuten kuvioissa 8B ja 8C kerätä suuresta näyttilävyydestä ja konsentroida pienelle alueelle suojakalvon kärkiosaan.
- 25 Kuviossa 8E on esitetty on esitetty kuvion 8D magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa ferromagneettinen putki 12 on siirretty kokonaan magneetin 13 päälle. Tällöin magneettikentä poistuu ja mikropartikkeliit 22 vapautuvat magneettikentästä liuokseen 23.
- 30 Kuvioissa 9A-9G on esitetty vaiheittain magneettiyksikön 10 käyttömenetelmä suuren mikropartikkelimassan keräämiseksi suuresta nestetilavuudesta ja mikropartikkeliin konsentroiminen pieneen tilavuuteen.
- 35 Kuviossa 9A on esitetty astia 26a, jossa mikropartikkeliit 22 ovat nesteessä 23 suressa tilavuudessa.
- 35 Kuviossa 9B on esitetty eksinnön mukainen magneettiyksikkö 10, joka on sijoitettu kuvion 9A astiaan 26. Magneettiyksikön 10 avulla mikropartikkeliit 22 siirretään liuoksesta 23a

magneettiyksikön 10 suojakalvon 21 pinnalle. Kuvion 9B magneettiyksikössä 10 on venymällömällä suojakalvolla 21 suojaudu magneetti 13, joka on magnetoitu poikittain. Tällaisella magneettiyksiköllä 10 mikropartikkeliit 22 saadaan kerätyksi suurelle alueelle suojakalvon 21 pinnalle.

5

Kuviossa 9C on esitetty toinen astia 26b, jossa on pieni tilavuus nestettä 23b. Tähän astiaan 26b siirretään kuvion 9A astiasta 26a magneettiyksiköllä 10 kerättyt mikropartikkeliit 22. Kuviossa 9C esitetty astia 26b on mitoiltaan ja nestetilavuudeltaan sopivasti valittu käytettäväksi esitetyn magneettiyksikön 10 kanssa.

10

Kuvioissa 9D-9F on esitetty vaiheittain suuresta tilavuudesta kerättyjen mikropartikkeliien 22 vapauttamisprosessi pieneen tilavuuteen.

Kuviossa 9D on esitetty astiaan 26b upotettu magneettiyksikkö 10. Tällöin on saavutettu se tavoite, jonka mukaan upotettaessa magneettiyksikkö 10 nesteesseen 23b pieni nestetilavuuden nestepintaan saadaan sopivasti nostetuksi yli sen rajan, johon ylimmällään mikropartikkeli 22 on kerätty kuvion 9B esittämästä suuresta astiasta 26a. Menetelmässä käytetään hyväksi sitä, että nesteesseen upotettuna kappale syrjäyttää tilavuutensa verran nestettä. Kun käytetään sopivan mallista ja muotoista astiaa sekä siihen kooltaan ja muodoltaan sopivaa magneettiyksikköä, niin nesteen pinta astiassa nousee juuri halutulle korkeudelle. Olennaisista tällöin on se, että partikkelit jäävät nestepinnan alapuolelle.

Kuviossa 9E on esitetty kuvion 9D magneettiyksikkö 10 tilanteessa, jossa ferromagneettista putkea 12 liikutetaan alaspäin. Tällöin mikropartikkeliit 22 vapautuvat suojakalvon 21 pinnalta ylhäältä lähtien alaspäin.

Kuviossa 9F on esitetty kuvion 9E magneettiyksikkö 10 seuraavassa tilanteessa, jossa ferromagneettinen putki 12 on siirretty kokonaan magneettiin 13 päälle ja putken 12 ulkopuolella ei enää ole magneettikenttää pitämään mikropartikkeliita 22 kilnni suojakalvon 21 pinnalla. Mikropartikkeliit 22 on nyt kokonaan vapautettu ympäröivään nesteesseen 23b.

Kuviossa 9G on esitetty tilanne, jossa magneettiyksikkö 10 on siirretty pois astiasta 26b, jolloin nestepinta on laskenut takaisin lähtötilanteeseen. Toimenpiteen lopputuloksena suuri mikropartikkelimassa on voitu siirtää tehokkaasti ja yksinkertaisesti pieneen tilavuuteen, kuten on esitetty kuviossa 9G. Tästä voidaan jatkaa konsentrointia edellä

esitettyyn tapaan tai edellisissä kuvioissa esitettyjä menetelmiä käyttäen. Mikropartikkeliön 22 siirtoja ja konsentrointivalhelta voidaan tehdä sopivasti eri tavoin tarpeen mukaan.

Kuvossa 10 on esitetty esimerkki käsin käytettävästä, keksinnön mukaisesta

- 5 mikropartikkellen siirtolaitteesta 30. Siirtolaitteeseen 30 kuuluu runkoputki 31, sen jatkeena oleva soviteholki 32 ja keksinnön mukainen magneettiyksikkö 10 siirtolaitteen päässä. Magneettiyksikkö 10 on magneetti 13, tanko tai siirtotappi 11, ferromagneettinen putki 12 ja jäykkä suojakalvo 21 painettuna soviteholkin 32 päälle.
- 10 Magneettiyksikön 10 magneettia 13 liikuttava ei-ferromagneettinen tanko 11 ulottuu siirtolaitteen 30 yläosaan asti, jossa se on liitetty magneetin siirtolustiin 37. Tätä siirtolustia 37 liikutetaan käsin magneetinsiirtotapin 38 avulla, joka työntyy runkoputken 31 seinästä ylös pitkänomaisen aukon 39 kautta. Magneetinsiirtotappia 38 voidaan työntää ylöspäin ja alas päin aukossa 39, jolloin siirtolusti 37 ja sen mukana myös tanko 11 ja magneetti 13 liikkuvat ylöspäin ja alas päin.

Edelleen mikropartikkellen siirtolaitteessa 30 on myös mekanismi ferromagneettisen pulken 12 liikuttamiseksi aksiaalisuunnassa. Mekanismiin kuuluu putken siirtoyksikkö 34 ja putkenliirtotappi 35, joka myös työntyy runkoputken 31 läpi toisesta pitkänomaisesta aukosta 36. Myös putkenliirtotappia 35 voidaan työntää ylöspäin ja alas päin aukossa 36, jolloin putken siirtoyksikkö 34 ja samalla myös ferromagneettinen putki 12 liikkuvat ylöspäin ja alas päin.

- 20 Mikropartikkeliensiirtolaitetta 30 pidetään kädessä siten, että sormella voidaan helposti liikuttaa sekä magneetinsiirtotappia 38 että putkenliirtotappia 35.

- 25 Kuvossa 11 on esitetty eräs esimerkki käsin käytettävästä mikropartikkeliön monikanavaislaitteesta 40, jonka magneettiyksikköryhmään 41 kuuluu kahdeksan keksinnön mukalista magneettiyksikköä 10. Magneettiyksikköryhmän 41 magneettiyksiköt 30 sijaitsevat rivissä. Jokaisessa magneettiyksikkössä 10 on magneetti 13, siirtotappi 11, ferromagneettinen putki 12 ja suojakalvo 21. Kuvion 11 esittämässä esimerkissä ei ole esitetty mekanismia magneettiyksikköiden 10 ferromagneettisten putkien 12 liikuttamiseksi ylöspäin ja alas päin, kuten edellisessä esimerkissä. Kuvossa on esitetty esimerkin vuoksi alnoastaan yksinkertainen mekanismi magneettiyksikköiden 10 kaikkien kahdeksan 35 magneetin 13 liikuttamiseksi samanaikaisesti.

Kuviossa 11 magneettiyksiköiden 10 magneettien 13 mekanismiin kuuluu yhdystanko 43, johon kaikkien magneettien 13 tangot 11 on liitetty. Monikanavasiirtolaitteen 40 magneetteja 13 liikutetaan alaspäin ja ulos ferromagneettisista putkista 12 painamalla sormella osittain siirtolaitteen ulkopuolella olevasta "liipasimesta" 46, joka on välitangon 45 5 välityksellä liitetty magneettien 13 yhdystankoon 43. Magneetit 13 palautuvat takaisin yläasentoonsa yhdystankoon 43 liitettyjen palautusjousien 44 avulla.

Erään mikropartikkellen monikanavasiirtolaitteen 40 sovellusmuodon mukaan kaikki magneetit samanaikaisesti, vaan että tarvittaessa voidaan lukita osa magneeteistä 13 10 haluttuun asentoon. Lisäksi eri magneettiyksiköissä 10 voi olla mekanismi, jonka avulla myös ferromagneettisia putkia voidaan liikuttaa ylöspäin ja alas.

Kuviossa 12 on esitetty mikropartikkellen siirtolaitteautomaatti 50, jossa on keksinnön mukaisia magneettiyksiköltä rivissä tai kuviossa 12 esitetyn mukaisessa $n \times m$ matriisissa 15 51. Magneettiyksiköt 10 ovat klinni kontrolliyksikössä 52, jossa on tarvittava mekanilika magneettien 52 ja ferromagneettisten putkien siirtämiseen pystysuunnassa. Kontrolliyksikkö 52 voi sekä liikkua ylöspäin ja alas päin nuolen 54 suunnassa ja/tai nuolen 53 mukaisesti 20 sivusuunnassa. Magneettiyksiköiden alle tason 57 päälle sijoitetaan näytelevy 55 joko manuaalisesti tai laboratorirobotin avulla. Näytelevyssä 55 on näyttekaivoja joko yhdessä rivissä tai matriisissa 56 kuten kuvosta 12 nähdään.. Automaattiin 50 kuuluu vielä toinen kontrolliyksikkö 58, joka hoitaa siirtologiikan ja sisältää kaiken tarvittavan elektronilisen 25 automaatin toimilaitteiden ohjaamiseksi ja vuorovaikutuksen hoitamiseksi muiden laboratoriolaitteiden kanssa.

Yllä mainitut keksinnön suoritusmuodot ovat vain esimerkkejä keksinnön mukaisen idean toteuttamisesta. Alan ammattimiehelle on selvää, että keksinnön erilaiset suoritusmuodot 25 volvat valhdella jäljempänä esitettävien patenttivaatimusten puitteissa.

VIITENUMEROLUETTELO

- 10 magneettilyksikkö
- 11 tanko
- 5 12 ferromagneettinen putki
- 13 magneetti
- 14 liitoskohta
- 15 suuaukko
- 16 liitosputki
- 10 17 magneettikentää kuvaavat viivat
- 18 magneettikentän keräysalue
- 19
- 20 keräyspinta
- 16 21 suojakalvo
- 22 mikropartikkelim
- 23 liuos
- 24 magneetin napa
- 25 nestepinta
- 20 26 astia
- 27 käämi
- 28
- 29
- 25 30 mikropartikkellen siirtolaite
- 31 runkoputki
- 32 soviteholki
- 33
- 34 putkensiirtoykelkkö
- 30 35 putkensiirtotappi
- 36 pitkänomainen aukko
- 37 magneetin siirtolusti
- 38 magneetin siirtotappi
- 39 pitkänomainen aukko
- 35 40 mikropartikkellen monikanavasiirtolaite
- 41 magneettilyksikköryhmä

- 42
- 43 yhdystanko
- 44 palautusjousi
- 45 välitanko
- 5 46 "liipasin"
- 47
- 48
- 49

- 10 50 automaatti
- 51 matriisi
- 52 kontrolliyksikkö
- 53 nuoli
- 54 nuoll
- 16 55 näyttelevy
- 56 matriisi (toisen kerran)
- 57 taso
- 58 (toinen) kontrolliyksikkö
- 59
- 20 59
- 60

L 2

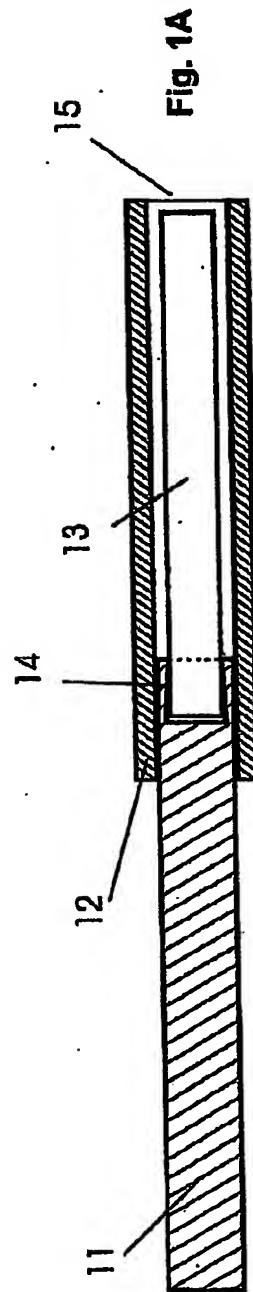


Fig. 1A

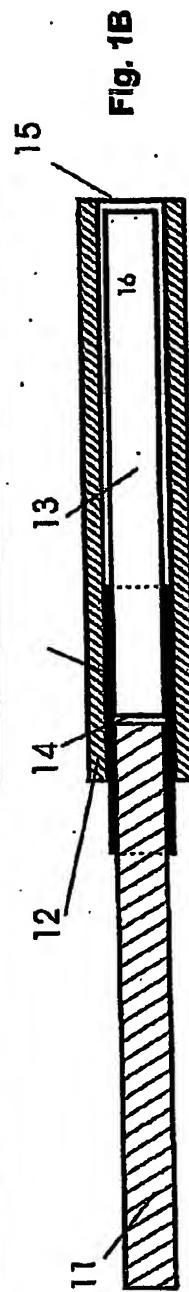


Fig. 1B

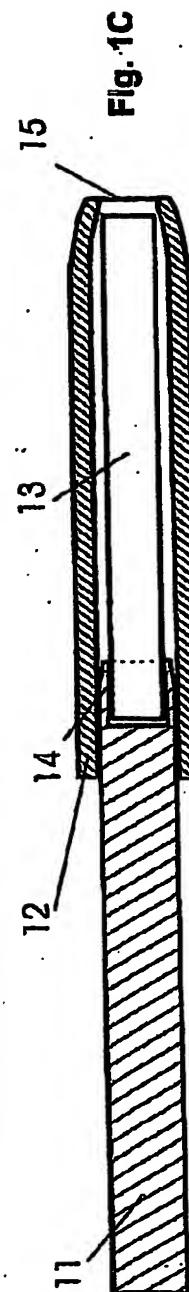


Fig. 1C

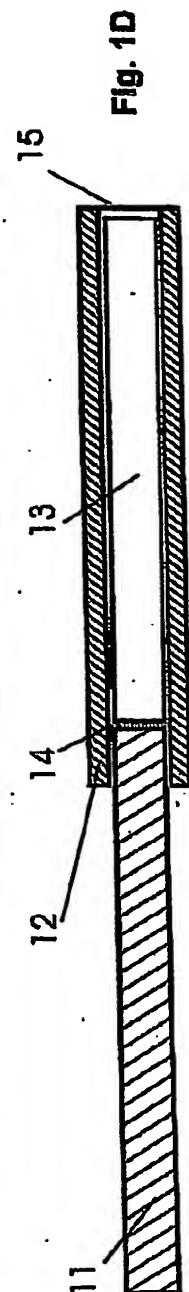
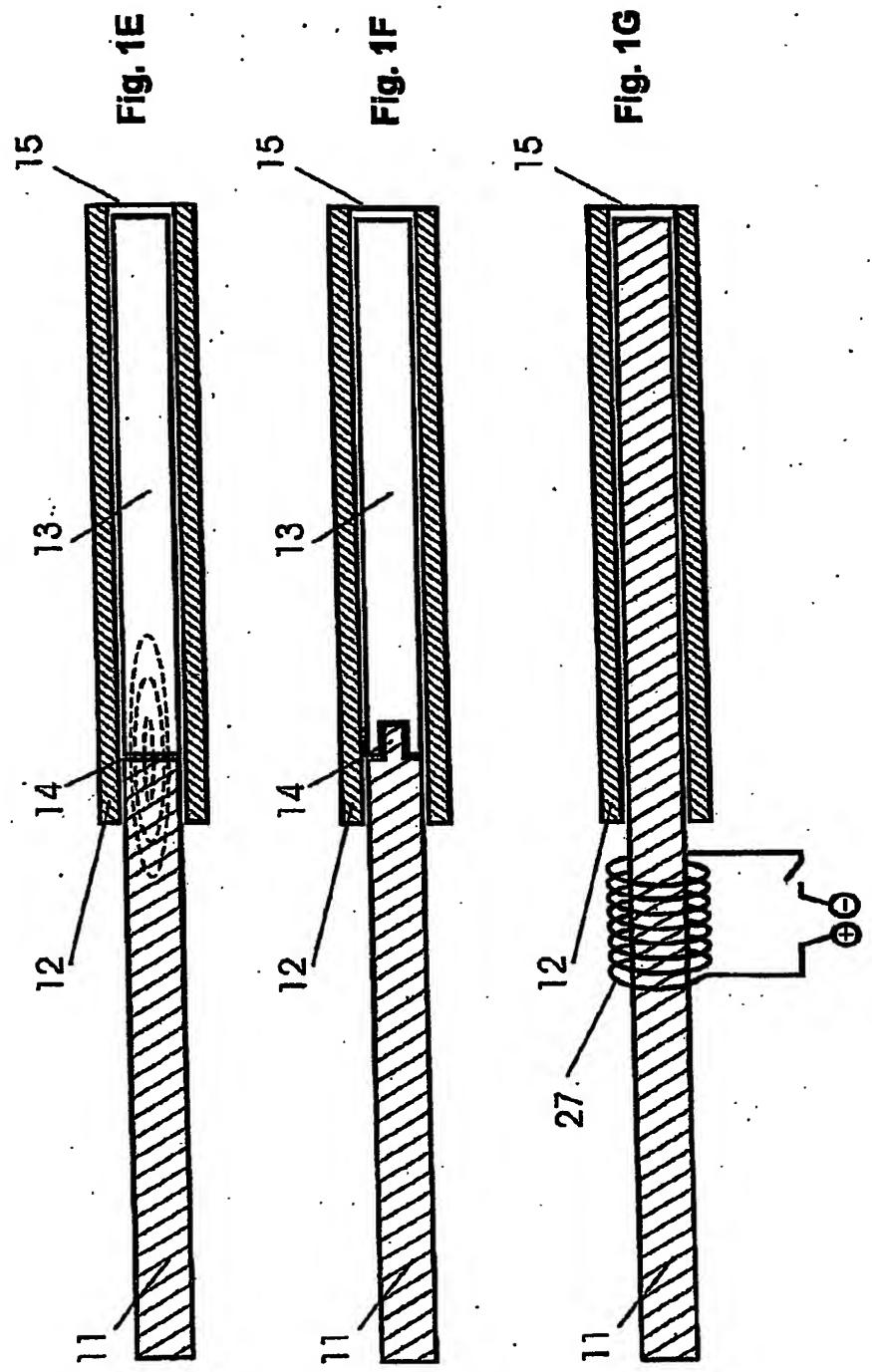


Fig. 1D



L 2

3

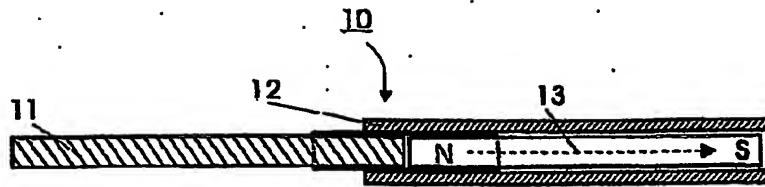


Fig. 2A

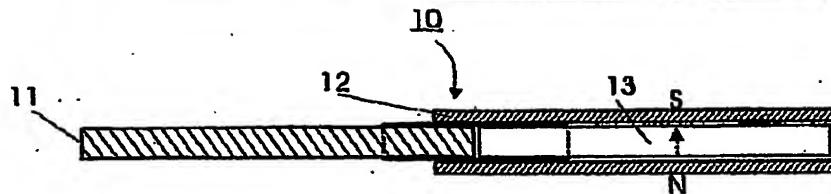


Fig. 2B

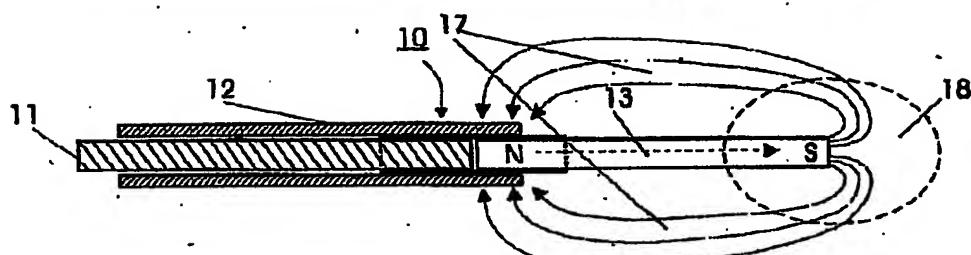


Fig. 2C

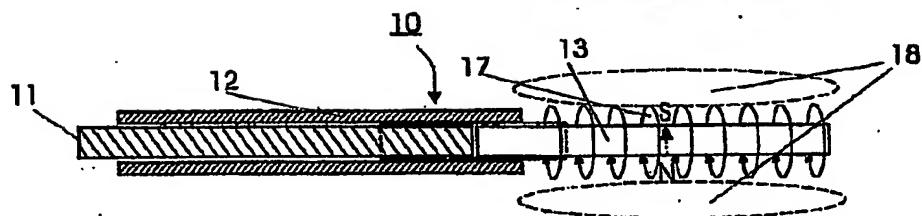


Fig. 2D

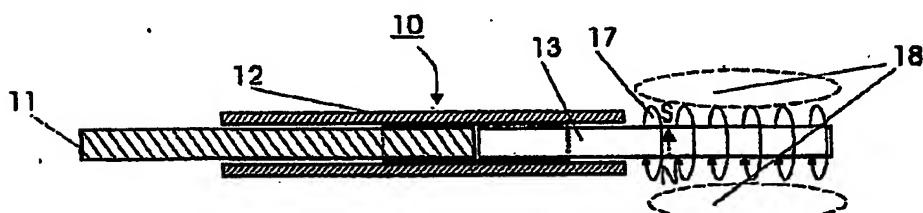


Fig. 2E

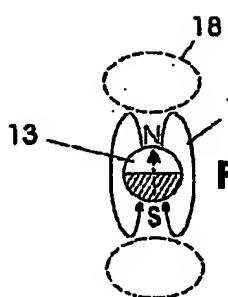


Fig. 2F

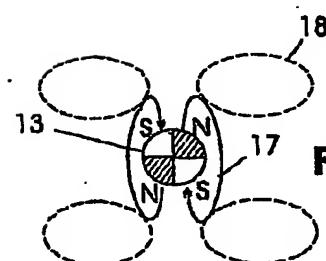


Fig. 2G

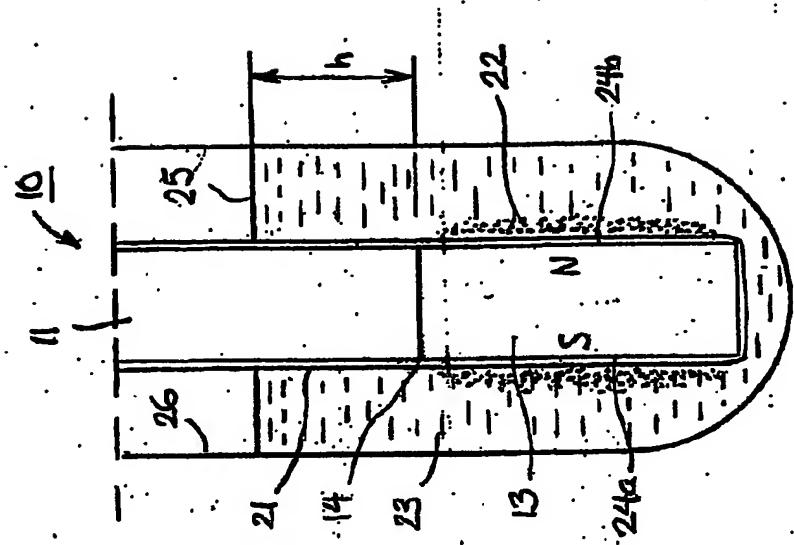


FIG. 3B

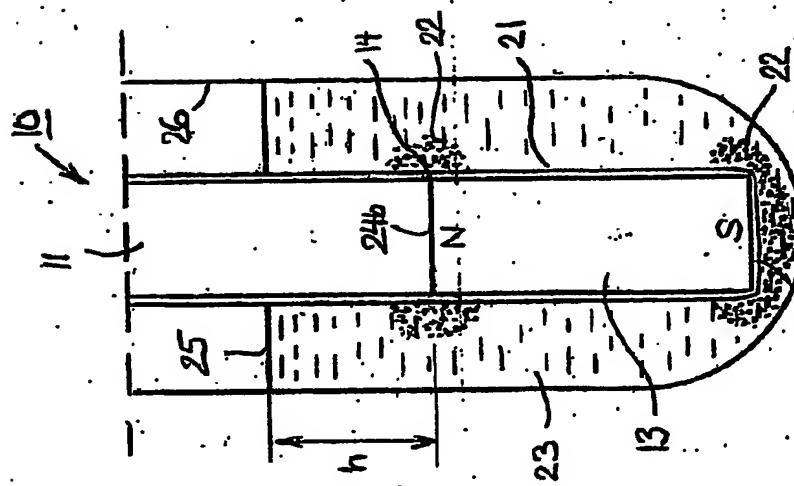


FIG. 3A

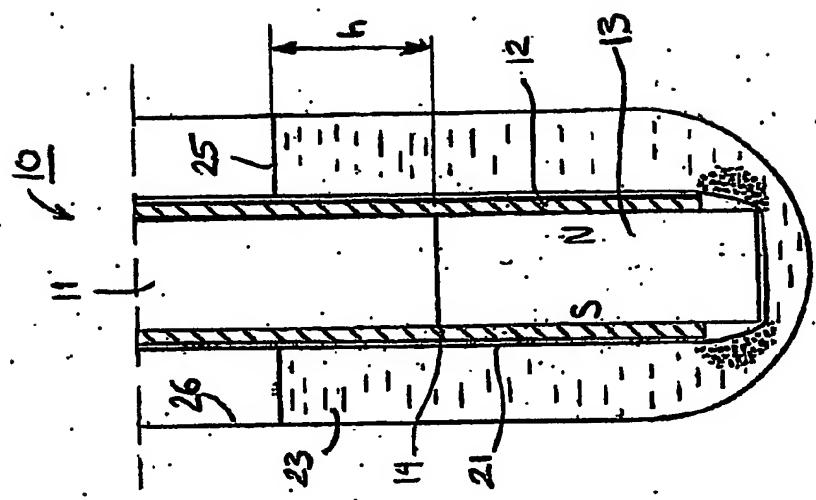


FIG. 4B

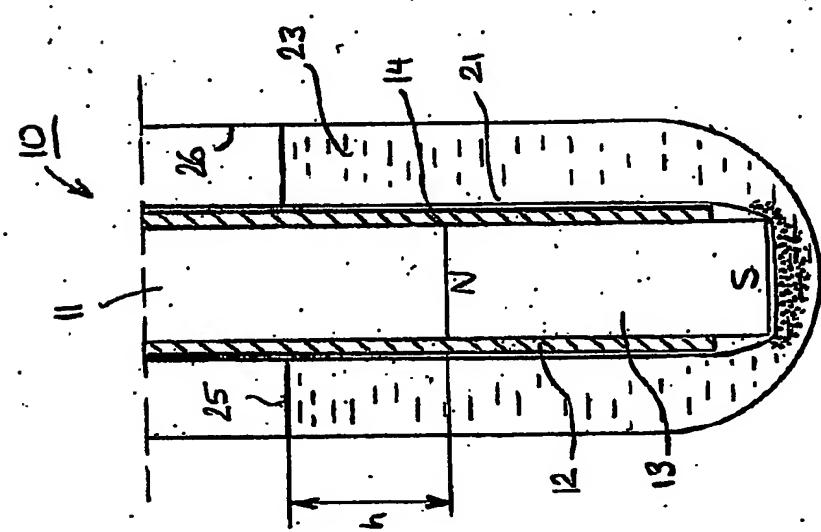


FIG. 4A

L 2

6

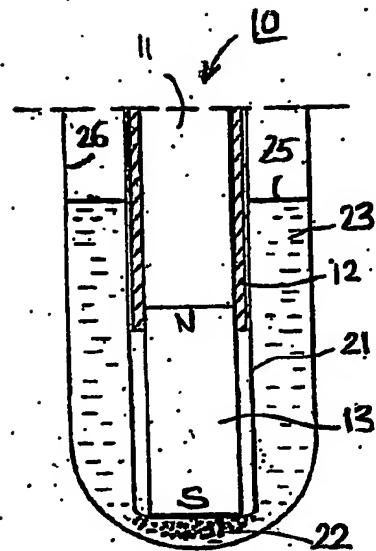


FIG. 5A

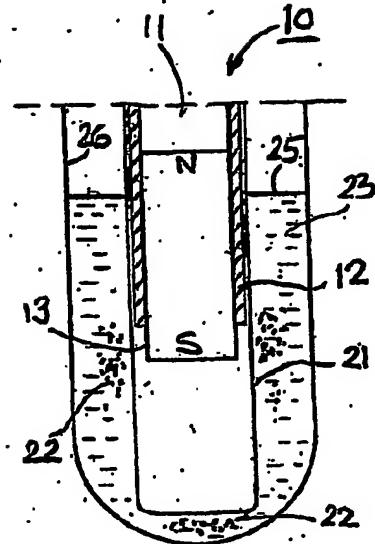


FIG. 5B

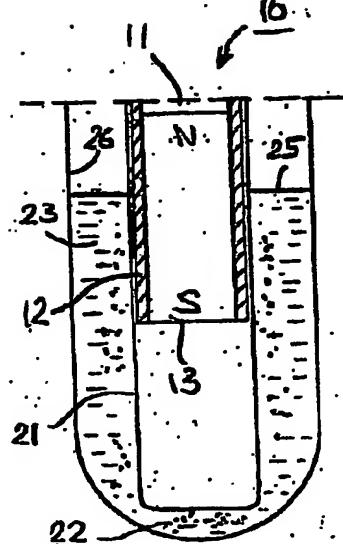


FIG. 5C

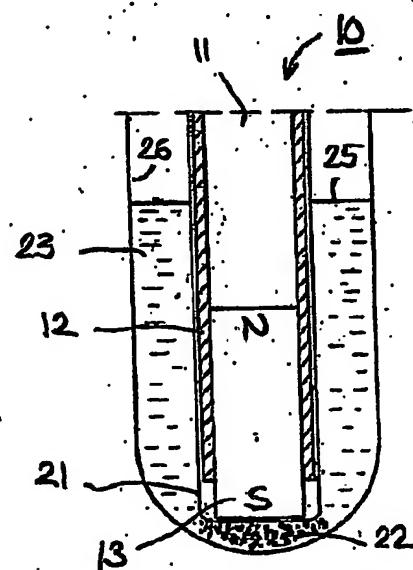


FIG. 5D

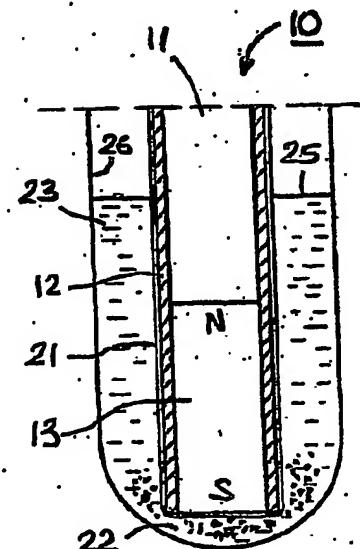


FIG. 5E

L2

7

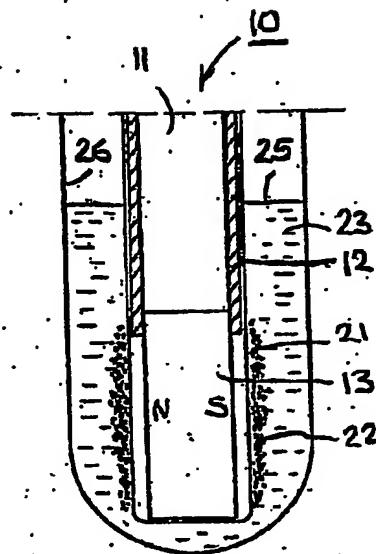


FIG. 6A

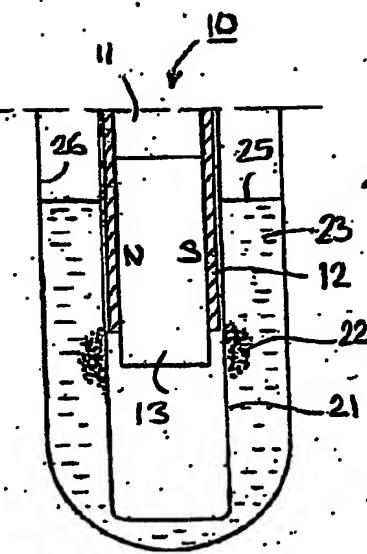


FIG. 6B

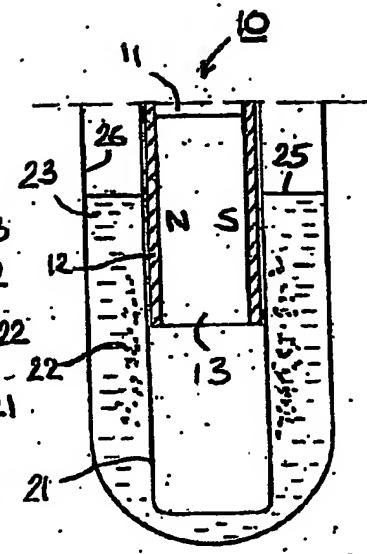


FIG. 6C

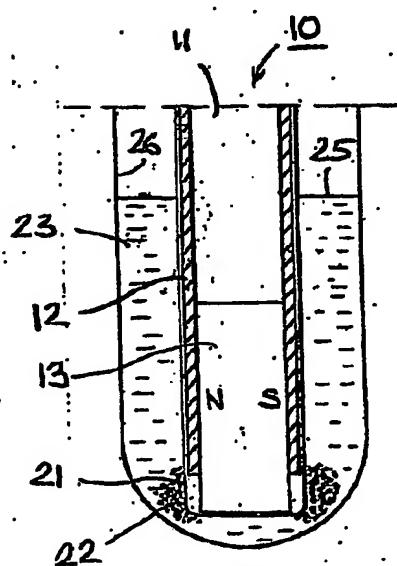


FIG. 6D

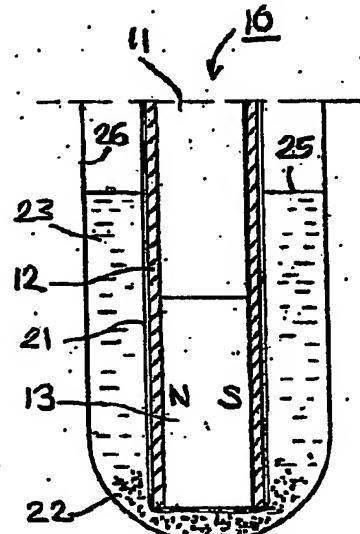


FIG. 6E

L2

8.

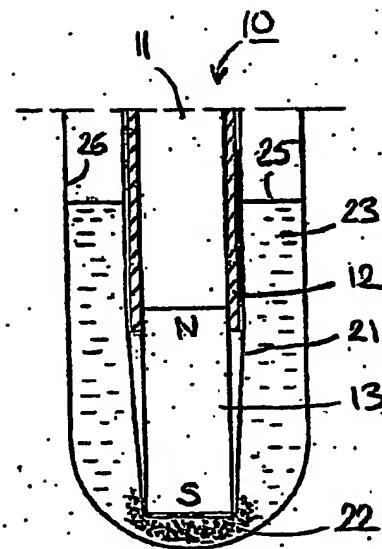


FIG. 7A

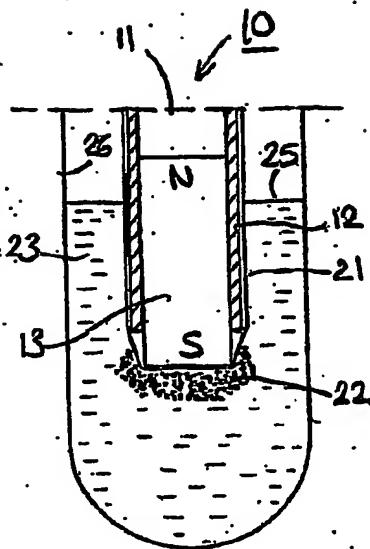


FIG. 7B

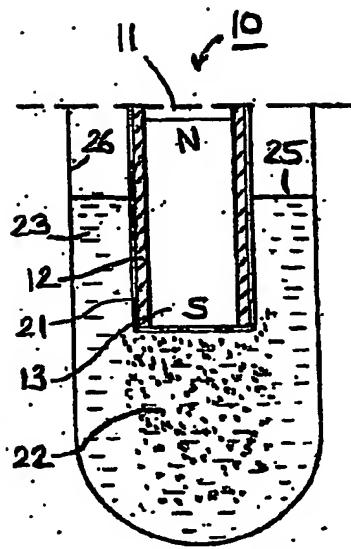


FIG. 7C

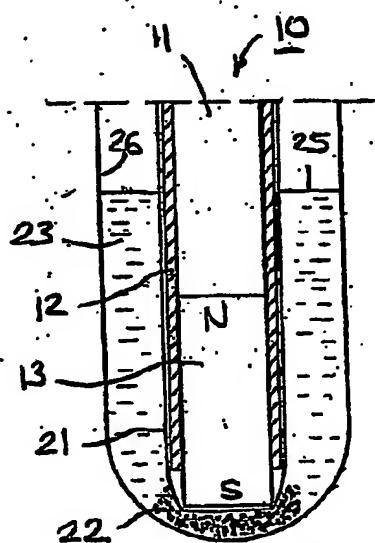


FIG. 7D

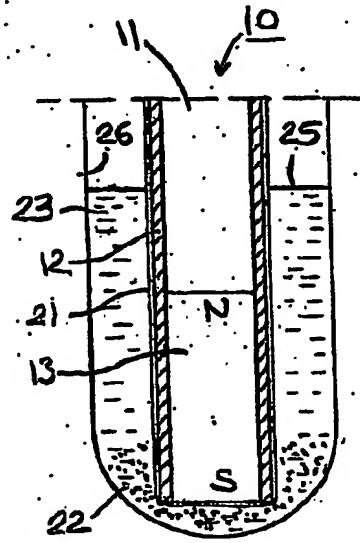


FIG. 7E

L2

9

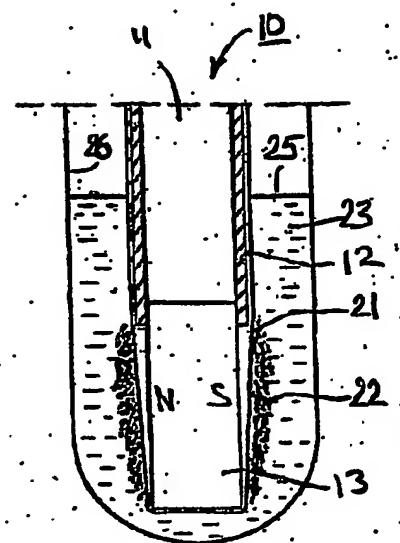


FIG. 8A

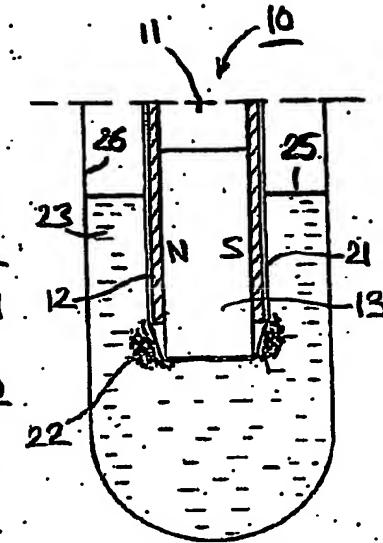


FIG. 8B

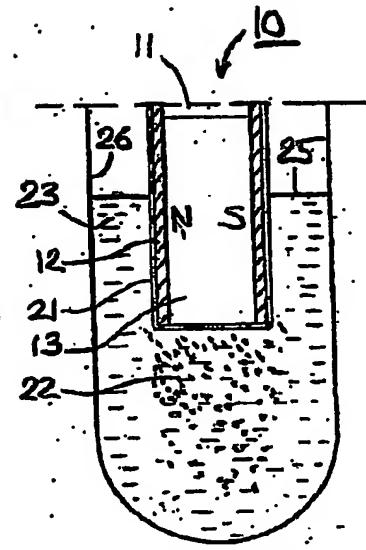


FIG. 8C

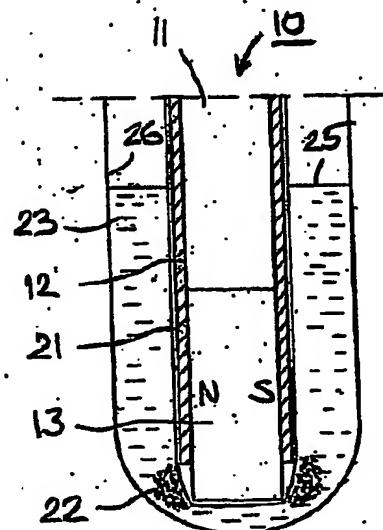


FIG. 8D

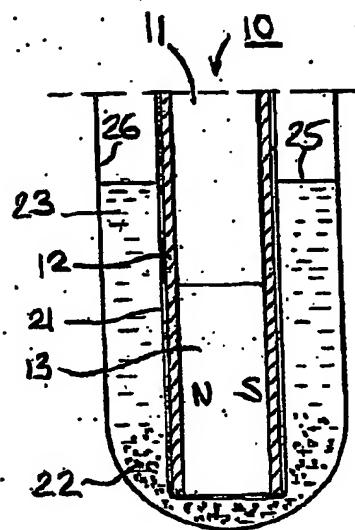


FIG. 8E

22

10.

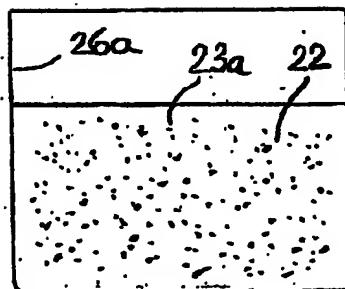


FIG. 9A

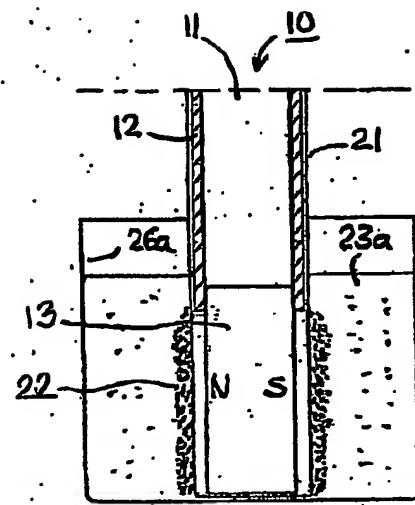


FIG. 9B

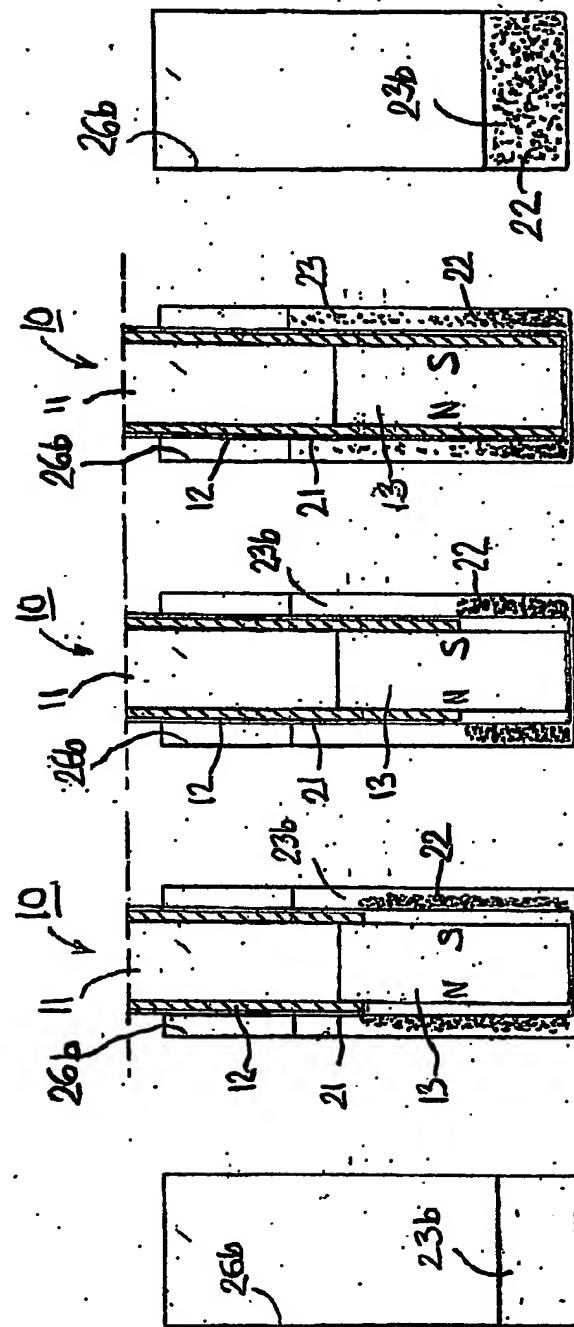


FIG. 9C

FIG. 9F

FIG. 9E

FIG. 9D

FIG. 9G

L 2

12

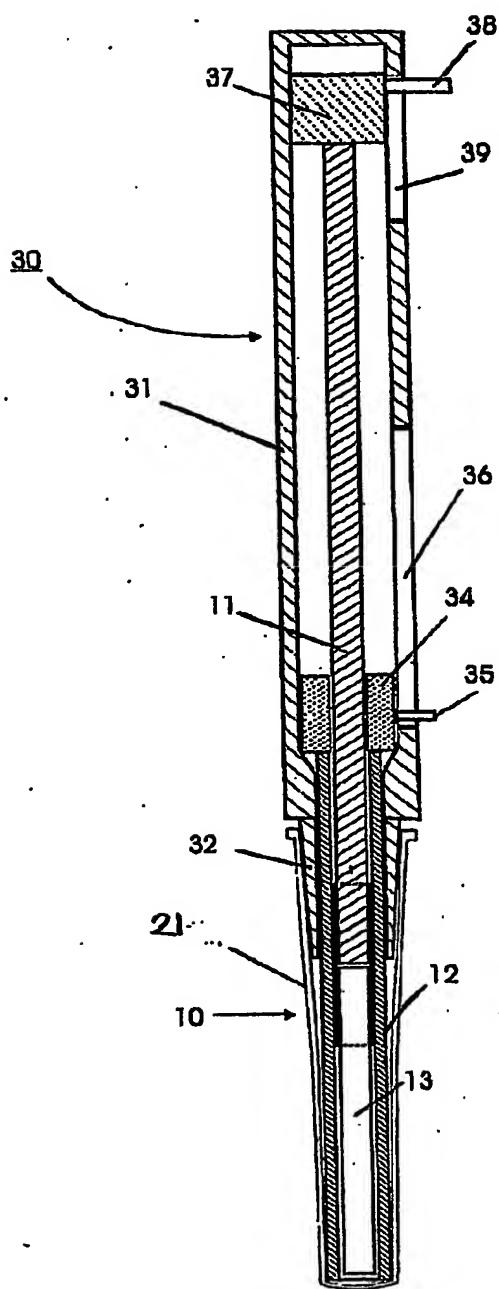


Fig. 10

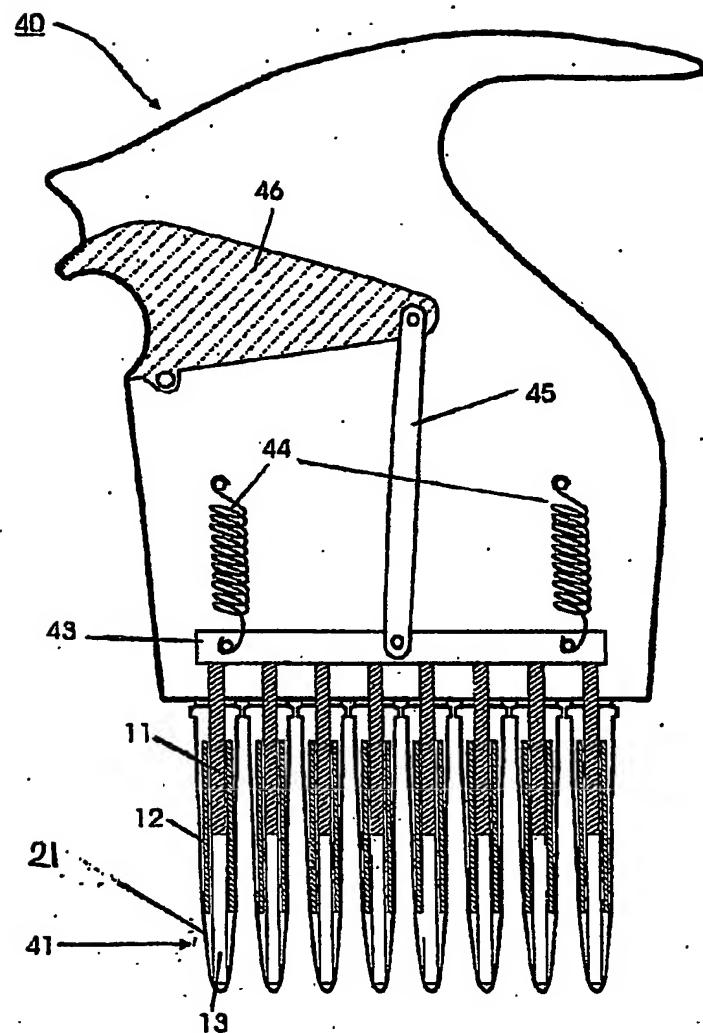


Fig. 11

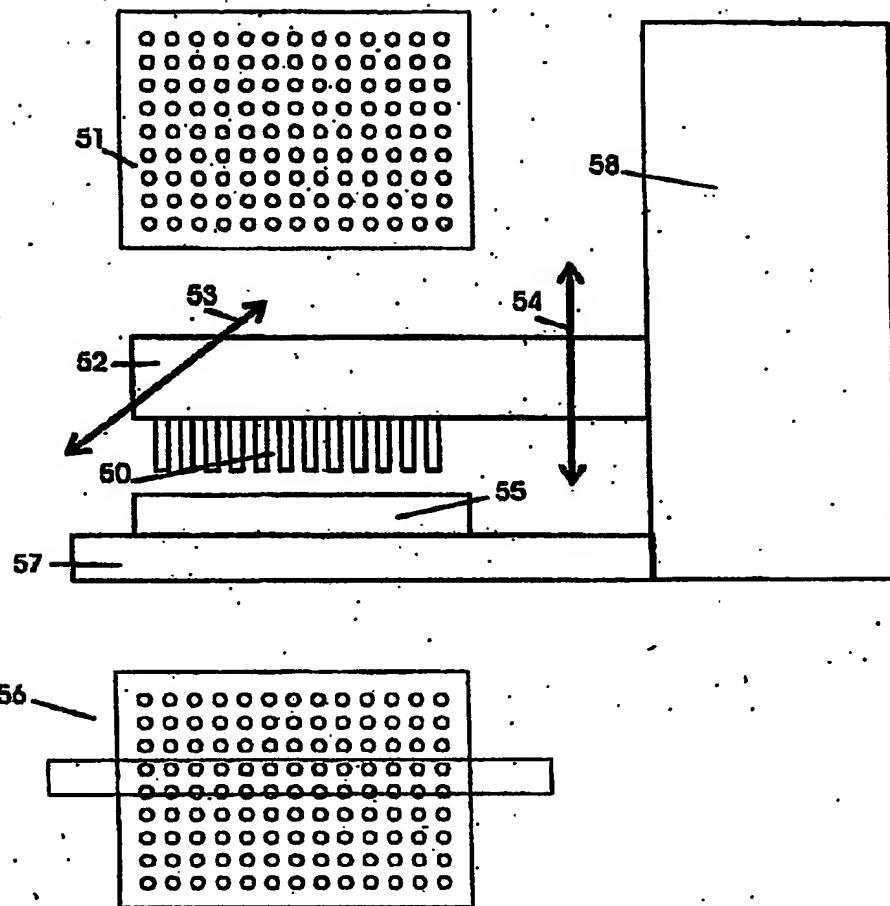


Fig. 12

This Page is inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT OR DRAWING
- BLURED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- GRAY SCALE DOCUMENTS
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- REPERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.
As rescanning documents *will not* correct images
problems checked, please do not report the
problems to the IFW Image Problem Mailbox